

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1938-1939 - N° 1

ÉTUDE TOXICOLOGIQUE, PHYSIOLOGIQUE
ET HISTOPHYSIOLOGIQUE
DE L'HÉMOGLOBINE

EN SOLUTION ADMINISTRÉE A DOSE THÉRAPEUTIQUE
PAR VOIE VEINEUSE
A DES CHIENS EN ÉTAT D'ANÉMIE AIGUË PAR SAIGNÉE

THÈSE POUR LE DIPLOME SUPÉRIEUR DE PHARMACIEN

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 15 Mars 1939

PAR

Raymond-Pierre-Ferdinand CASTAGNOU

Né à Illats (Gironde), le 1^{er} Juillet 1908

Examinateurs de la Thèse	{	MM. AUBERTIN, professeur	Président
		CHELLE, professeur	Juges
		LABAT, professeur	
		LACOSTE, professeur	

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1939



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548603_0072

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1938-1939 - N° 1

ÉTUDE TOXICOLOGIQUE, PHYSIOLOGIQUE
ET HISTOPHYSIOLOGIQUE
DE L'HÉMOGLOBINE

EN SOLUTION ADMINISTRÉE A DOSE THÉRAPEUTIQUE
PAR VOIE VEINEUSE
A DES CHIENS EN ÉTAT D'ANÉMIE AIGÜE PAR SAIGNÉE

THÈSE POUR LE DIPLOME SUPÉRIEUR DE PHARMACIEN

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 15 Mars 1939

PAR

Raymond-Pierre-Ferdinand CASTAGNOU

Né à Illats (Gironde), le 1^{er} Juillet 1908

Examineurs de la Thèse	{	MM. AUBERTIN, professeur	Président
		CHELLE, professeur.....	Juges
		LABAT, professeur.....	
		LACOSTE, professeur	

BORDEAUX

IMPRIMERIE E. DROUILLARD

PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1939

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN : M. MAURIAC. — ASSESSEUR : M. LABAT
DOYEN HONORAIRE : M. C. SIGALAS

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. POUSSE, MOURE, BARTHE, DENIGÈS, BEILLE, CASSAËT,
CHAVANNAZ, C. SIGALAS, SABRAZÈS, BÉGOVIN, DUPOUY.

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	MAURIAC	Physiologie.....	FABRE
Clinique chirurgicale et gynécologique...	DUPÉRIÉ	Clinique ophtalmologique	TEULIÈRES
Clinique chirurgicale	GUYOT	Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	ROCHER
Pathologie et thérapeutique générales	PAPIN	Clinique médicale des maladies des enfants	CRUCHET
Clinique d'accouchements	CARLES	Chimie biologique et médicale	MACHEBEUF
Anatomie pathologique et microscopie clinique	ANDÉRODIAS	Physique médicale et pharmaceutique	WANGERMEZ
Anatomie	DAMADE	Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Anatomie générale et histologie	VILLEMIN	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	PETGES
Hygiène	G. DUBREUIL	Clinique des maladies des voies urinaires.....	DUVERGEY
Médecine légale et déontologie	LEURET	Clinique des maladies nerveuses et mentales	ABADIE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	LANDE	Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Chimie	RÉCHOU	Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT
Botanique et matière médicale	CHELLE	Hydrologie thérapeutique et Climatologie	CREYX
Pharmacie	GOLSE	Clinique odonto-stomatologique.....	DUBECQ
Zoologie et parasitologie	VITTE		
Médecine expérimentale	MANDOUL		
	AUBERTIN		

MM. LACOSTE (Histologie), PERY (Obstétrique), PERRENS (Maladies mentales),
R. SIGALAS (Parasitologie et sciences naturelles), JEANNENEY (Chirurgie générale).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie.....	N... DUFOUR	Chirurgie générale	CHARRIER LOUBAT MASSÉ DARGET N...
Physiologie.....	N... PIECHAUD DELMAS-MARSALET DE GRAILLY FONTAN BROUSTET DERVILLE N...	Obstétrique	RIVIÈRE
Médecine générale		Ophtalmologie	BEAUVIEUX
		Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
		Dermatologie et syphiligraphie	JOULIA
		Physique médicale	N...
		Chimie générale pharmaceut. et toxicologie.	N...

COURS COMPLÉMENTAIRES :

Médecine opératoire	JEANNENEY	Ophtalmologie	GABANNES (en congé)
Accouchements	RIVIÈRE	Physique médicale et pharmaceutique	AURIAC
Pathologie médicale	DELMAS-MARSALET	Anatomie	J. BEAUVIEUX
Puériculture	FAUGÈRE	Chimie minérale	CASTAGNOU
Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS	Botanique	GIRARD
Médecine légale	DERVILLEE	Pharmacie galénique	MESNARD
Urologie	DARGET	Bactériologie	MOUREAU
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI	Physiologie	PETITEAU
Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes.			

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A MA FILLE

A MA FEMME

A MES PARENTS

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. LACOSTE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

CROIX DE GUERRE

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

A ce Maître, dont la bienveillance et la si grande cordialité n'ont point de limite, nous venons l'assurer de nos sentiments profondément reconnaissants. Si nous avons été pour lui, durant quelques semaines, un sujet de nombreux tracas, nous sommes certain qu'il nous a déjà volontiers pardonné. Nous n'oublions jamais sa grande amabilité à notre égard et nous l'assurons de notre fidèle reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR WANGERMEZ

PROFESSEUR DE PHYSIQUE MÉDICALE ET PHARMACEUTIQUE

RADIOLOGISTE DES HÔPITAUX

CHEF ADJOINT DU SERVICE DE RADIOTHÉRAPIE

ET DE CURIETHÉRAPIE AU CENTRE ANTICANCÉREUX

Qui nous a permis, grâce à ses conseils et à ses connaissances, de mener à bien une partie de ce travail. Nous l'assurons de l'expression de notre sincère reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR M. MACHEBŒUF

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

OFFICIER D'ACADÉMIE

Avec tous nos remerciements et
nos sentiments reconnaissants et
dévoués.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CHELLE

PROFESSEUR DE CHIMIE

MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Notre Maître toujours si dévoué à
notre cause, si apte à nous soutenir
et à nous encourager et dont nous
sommes heureux d'être l'élève.
Qu'il trouve ici toute l'expression
de notre fidèle et profonde recon-
naissance et le gage de notre entier
dévouement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. LABAT

PROFESSEUR DE TOXICOLOGIE ET D'HYGIÈNE APPLIQUÉE

PHARMACIEN-CHEF DES HÔPITAUX

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Qui nous a toujours manifesté une si grande sympathie. Il fut toujours pour nous, au cours de nos études et de nos travaux, un guide précieux et pondéré.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. DUBREUIL

PROFESSEUR D'ANATOMIE GÉNÉRALE ET HISTOLOGIE
A LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE BORDEAUX

DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR DE BORDEAUX
MEMBRE CORRESPONDANT DE LA SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre profonde gratitude, et nos remerciements les plus sincères pour sa si grande amabilité.

A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR E. AUBERTIN

PROFESSEUR DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE

MÉDECIN DES HÔPITAUX

CROIX DE GUERRE

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE.

A vous, cher et vénéré Maître, comment vous exprimer tous nos remerciements ? Vous vous êtes occupé de nous dans une si large mesure, que vous en avez oublié vos travaux personnels. N'est-ce pas le plus grand gage d'estime que vous pouviez nous donner ? Vous nous avez prodigué et vos conseils et vos peines, vous avez secoué notre flegme habituel, et si ce travail est ce qu'il est aujourd'hui, c'est à vous que nous le devons presque entièrement.

Veillez trouver, peut-être dans ces lignes, mais sûrement au plus profond de nous-même, toute l'immense reconnaissance de celui qui vous doit tant.

ÉTUDE TOXICOLOGIQUE, PHYSIOLOGIQUE
ET HISTOPHYSIOLOGIQUE
DE L'HÉMOGLOBINE

EN SOLUTION ADMINISTRÉE A DOSE THÉRAPEUTIQUE
PAR VOIE VEINEUSE
A DES CHIENS EN ÉTAT D'ANÉMIE AIGÜE PAR SAIGNÉE

INTRODUCTION

En 1935, le Docteur Sappey présentait une thèse en médecine, faite au Laboratoire de Médecine Expérimentale sous la direction de M. le Professeur Aubertin, sur les effets de l'hémoglobine en solution injectée dans la circulation à des chiens en état d'anémie aiguë par saignée. Ce travail préliminaire, dont les conclusions s'appuyaient surtout sur l'observation clinique des animaux ainsi traités, aboutit en somme à poser le problème du remplacement éventuel de la transfusion sanguine par l'hémoglobinothérapie intra-veineuse, comme traitement d'urgence des hémorragies profuses.

M. le Professeur Aubertin nous pria de reprendre l'étude de cette question à sa base. C'est ce que nous avons fait depuis trois ans dans son Laboratoire et sous sa direction.

Nous nous sommes proposés de savoir si l'on pouvait, sans inconvénients, et avec profits, pratiquer à dose thérapeutique une injection dans les veines d'hétéro ou d'homo-hémoglobine à des sujets ayant subi une grave déperdition de sang.

A cet effet, nous nous sommes attachés à préciser le degré de toxicité de solutions d'hémoglobine de titres divers et

à déterminer la composition optima susceptible de donner à ces solutions le minimum de pouvoir toxique.

Par des dosages de gaz du sang, nous avons par ailleurs recherché si l'hémoglobine exogène ainsi introduite dans la circulation participait aux phénomènes physiologiques de l'hématose.

Enfin, nous avons essayé d'établir ce que devient l'hémoglobine dans l'organisme après sa disparition, d'ailleurs rapide, du milieu sanguin.

Une telle étude eût été incomplète, surtout en ce qui concerne la toxicité et les transformations *in vivo*, si nous n'avions eu recours aux lumières de l'anatomie microscopique. C'est sous la haute direction de M. le Professeur Lacoste que nous avons pu pratiquer une foule d'examen histologiques dont nous n'aurions pas su tirer profit s'il ne nous avait aidé de sa grande et scrupuleuse compétence.

Nous exprimons du fond du cœur à MM. les Professeurs Aubertin et Lacoste toute notre respectueuse gratitude pour les conseils qu'ils n'ont cessé de nous prodiguer, l'intérêt qu'il nous ont toujours marqué, et la part si importante qu'ils ont prise dans la réalisation et l'élaboration de ce travail. Qu'ils veuillent bien trouver ici l'expression de notre inaltérable et profond attachement.

M. le Professeur Chelle, notre Maître à la Faculté de Pharmacie, qui fut toujours pour nous un guide sûr et bienveillant, nous a dirigé au cours de toutes nos recherches chimiques. Nous lui sommes redevables de la mise au point d'une technique de dosage du fer dans les organes, et de bien d'autres conseils encore dont nous ne saurions trop le remercier.

Toute notre reconnaissance va également à M. le Professeur Labat qui nous a toujours suivi avec tant d'intérêt au cours de nos études et a bien voulu aussi s'intéresser à la bonne marche de notre travail.

Nous remercions aussi M. le Professeur Dubreuil qui nous a ouvert avec tant d'amabilité son Laboratoire d'His-

tologie; M. le Professeur Wangermez qui nous a si précieusement guidé au cours de nos études physico-chimiques, M. le Professeur Machebœuf dont les conseils éclairés furent pour nous d'un grand secours.

Nos remerciements vont également à M. le Docteur Moureau qui nous a fait profiter avec tant de bonne grâce et de dévouement de ses connaissances biologiques et de sa haute compétence pratique dans les techniques sérologiques.

Nous nous garderons d'oublier nos excellents amis Martinet et Castets, compagnons de travail toujours si empressés à nous aider et que nous avons mis si souvent à contribution.

Merci enfin à tout le Personnel du Laboratoire de Médecine Expérimentale qui fut constamment pour nous d'une aide vigilante, à quelque heure et dans quelque circonstance que ce fut.

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

CHAPITRE PREMIER

Recherches antérieures sur les troubles toxiques et les effets physiologiques de l'hémoglobine administrée en solution par voie parentérale.

C'est Paul Bert le premier qui, en 1868, pensant que le sang devait son activité physiologique à l'hémoglobine essaya d'utiliser ce pigment comme succédané de ce tissu. Il préparait sa solution d'hémoglobine en lysant des globules rouges sous l'influence du froid. Il obtenait ainsi des cristaux « d'hémato-cristalline » qui, se redissolvant à la température ordinaire, donnaient un liquide d'une belle coloration rouge. Ce liquide, après plusieurs cristallisations effectuées dans les mêmes conditions, était finalement injecté à un animal rendu exsangue. Les résultats obtenus par cet auteur ne furent guère encourageants; de son avis même l'animal mourait encore plus rapidement que s'il n'avait subi aucune injection. Il abandonna son expérimentation.

Sellards et Minot, en 1916, après avoir réalisé de nombreuses fois et sans incident des injections intraveineuses d'hémoglobine chez l'animal, essayèrent chez l'homme. Ils hémolysèrent des globules rouges de sang humain dans de l'eau distillée, obtenant ainsi une solution d'hémoglobine

qu'ils rendirent isotonique, par apport d'un fort excès de Cl Na. Les doses injectées étaient excessivement faibles de l'ordre de 1 à 33 cc. de globules rouges. Ils constatèrent une hémoglobinurie dans un certain nombre de cas.

Couvreur et Clément, en 1919, reprenant les expériences de Paul Bert chez le lapin montrèrent que dans tous les cas où une solution d'hémoglobine était injectée dans la circulation de ces animaux on obtenait des symptômes rapides et mortels d'intoxication aiguë. Ils conclurent alors que l'hémoglobine, même à très faible dose, est éminemment toxique.

Taylor, Manwell, Robscheit-Robbins et Whipple, en 1930 et dans les années qui suivirent, injectèrent par voie intraveineuse des hémoglobines hétérogènes au chien en état d'anémie expérimentale à faibles doses et quotidiennement. Ils constatèrent que ces animaux conservent cette hémoglobine et même sont capables de l'utiliser pour reconstruire leur propre hémoglobine. La régénération est encore plus rapide après usage d'homohémoglobine.

Puis s'accumula un nombre considérable de travaux sur cette question. Certains auteurs, tels que Barkroft, Drabking, Hoessler, Lichty, Havill, Whyppe, Minatoya, Manwell, Newman, Webster, Engel, Lang, Amberson, Yoshu Fukuda, Oliver cherchèrent à déterminer : le seuil d'élimination rénale de ce pigment, que ce fut pour des homohémoglobines ou des hétérohémoglobines, l'influence de la diurèse sur cette élimination, la nature sous laquelle l'hémoglobine est rejetée, les facteurs qui influencent son excrétion tels qu'injections répétées, pH, etc.

Kun Sribhishthag, Hawkins, Whipple, Mann, Sheard, Boliman, Bordes étudièrent les produits de la dégradation biologique de l'hémoglobine exogène dans l'organisme, sa transformation en pigments biliaires, en urobiline, en méthémoglobine.

Beaucoup d'auteurs mentionnèrent des accidents souvent mortels observés après injection intraveineuse de solution

d'hémoglobine, mais ils ne firent que les signaler sans y attacher grosse importance. Seul Matsumara en fit une étude détaillée, disant que l'hémoglobine est très toxique et entraîne surtout des altérations des organes du système digestif. Nous aurons d'ailleurs à revenir ultérieurement sur ce point.

D'autres auteurs, enfin, tels que Carthy, Forbes, Roche, Lévy, Mignon, Netter, Duce, Kenedy et Whipple se plaçant à un point de vue physiologique établirent les courbes de dissociation de l'oxygène et étudièrent le pH et le point isoionique et les propriétés de l'hémoglobine musculaire et de l'hémoglobine globulaire.

Mais dans la plupart des travaux ci-dessus rapportés, les modes de préparation et de purification, les quantités d'hémoglobine injectées, la tonicité des solutions varièrent dans des limites considérables, si bien qu'il est assez difficile de comparer les résultats entre eux. Nombreuses sont d'ailleurs les divergences de vue entre les différents chercheurs. D'autre part, et c'est un fait sur lequel il faut attirer l'attention, la plupart des auteurs antérieurement cités n'injectèrent qu'une quantité souvent très faible d'hémoglobine, soit en une seule injection, soit en injections quotidiennement répétées.

Delaunay, dans son travail : *A la recherche d'un liquide biologique pour le traitement des hémorragies graves*, a posé le problème sous un autre jour. Il montra combien les bienfaits de la transfusion sanguine sont importants et hors de doute, mais il se demanda aussi, s'il ne serait pas possible de remplacer ce sang par un autre liquide, plus ou moins synthétique. D'après cet auteur, les conditions que ce sérum devrait remplir sont les suivantes :

1° Ne présenter aucune toxicité.

2° Assurer la réplétion du système vasculaire, c'est-à-dire rétablir la masse liquidienne en circulation et relever la pression artérielle à son niveau habituel.

3° Assurer l'alimentation et l'épuration des éléments

anatomiques, et tout particulièrement le transit de l'oxygène et de l'acide carbonique.

4° Faciliter la réformation des constituants du sang, du plasma et des éléments figurés.

Oré, en 1868, avait déjà montré que le bienfait des transfusions ne pouvait être rapporté principalement au plasma injecté; et s'il est vrai que l'administration de sérum physiologique exerce un heureux effet dans les cas d'hémorragies graves mais non mortelles. Delaunay montra en réalité que l'action thérapeutique est encore plus manifeste lorsqu'on introduit par exemple dans le liquide de Ringer-Locke une proportion convenable de gomme arabique, ce qui assure « une réplétion du système vasculaire, rétablit la masse sanguine en circulation, relève la pression osmotique, empêche la fuite des solutions minérales dans les liquides intercellulaires ». Cependant, un tel liquide est incapable d'assurer un transport important d'oxygène. Aussi le même auteur essaya-t-il l'injection d'hématies hétérogènes mises en solution dans un sérum artificiel. Les résultats furent inconstants, du fait sans doute de l'apparition de ces corps étrangers dans la circulation. Delaunay se demanda alors « s'il ne serait pas possible d'améliorer les sérums minéraux par addition d'hémoglobine à dose convenable ».

Amberson et ses collaborateurs, en 1932, étudièrent ce problème dans toute son ampleur. Ils constatèrent que des glandes perfusées avec du liquide de Ringer hémoglobiné fonctionnent dans de bien meilleures conditions qu'avec du liquide de Ringer seul, sans doute parce que cette solution d'hémoglobine est capable de maintenir à sa valeur la pression osmotique colloïdale et de transporter l'oxygène. Ces auteurs étudièrent alors le comportement d'animaux, dont on remplace le sang circulant par un tel liquide.

Ils préparèrent, à partir d'hématies de bœuf, des solutions d'hémoglobine, auxquelles ils donnèrent une composition minérale conforme à des données établies déjà en 1898 par Abderhalden. Ils perfusèrent avec de telles solu-

tions le système vasculaire de différents animaux, en particulier des chats, et remplacèrent intégralement leur sang par le liquide sus-mentionné. La teneur en hémoglobine des premières solutions qu'ils utilisèrent était voisine de 5 p. 100, ceci afin de tenir compte de la mise en garde de Barkroft, disant que des solutions à pression osmotique très élevée seraient rapidement mortelles. Des animaux traités dans ces conditions conservèrent intégralement leur conscience, mais la durée de la survie fut très faible, de l'ordre de six à sept heures. Avec des concentrations plus élevées, ils constatèrent que la survie était d'autant plus longue que la teneur en hémoglobine était elle-même plus élevée. Le délai de survie maximum fut finalement de trente-six heures.

Les auteurs décrivirent, chez leurs animaux ainsi traités, une action narcotique passagère, un abaissement transitoire de la pression artérielle, une légère élévation du nombre des pulsations cardiaques, une augmentation du rythme respiratoire au moment de la narcose, une forte dyspnée peu avant la mort. La température des animaux a varié peu après l'injection, mais elle décrut au fur et à mesure que la mort approchait. Immédiatement après la période d'assoupissement initial, le comportement du sujet était absolument normal, les animaux ainsi traités étaient capables de voir, d'entendre et de se diriger; ils montraient de la curiosité et de la crainte; ils conservaient leurs habitudes; mais ils n'avaient ni faim, ni soif. Ils avaient tendance au sommeil et peu à peu tombaient dans le coma, dont on pouvait les tirer momentanément par administration d'oxygène.

Cherchant ce que devenait l'hémoglobine dans l'organisme des animaux ainsi traités, les auteurs constatèrent qu'elle disparaissait progressivement de la circulation. Elle est en partie éliminée par les reins. Cependant, même chez les animaux néphrectomisés, on ne retrouve plus en totalité le pigment dans le sang. Barkroft et Konlein, en 1922, ont

montré en effet que l'hémoglobine passe non seulement à travers les reins, mais aussi dans la circulation lymphatique. Enfin, elle est susceptible de se fixer dans les tissus et, d'après Shotsu, en 1933, elle serait notamment absorbée par les cellules du tissu réticulo-endothélial, et plus particulièrement par les cellules de Kupfer.

Le décès survient régulièrement quand la concentration en hémoglobine n'atteint plus que 3 p. 100 dans le milieu circulant. Une certaine quantité de l'hémoglobine injectée se transforme d'ailleurs en méthémoglobine, dans une proportion identique à celle que l'on constate dans une solution maintenue à 38° durant le même temps.

L'apparition de l'hémoglobine dans les urines se fit approximativement au cours de la première heure. La quantité éliminée varia considérablement. Les auteurs ont observé toutes les éventualités, depuis l'anurie complète jusqu'à une diurèse normale. La quantité d'hémoglobine rejetée dépendit de la concentration de la solution injectée. Plus celle-ci était concentrée, plus la diurèse fut faible. Vers la fin de l'expérience, l'hémoglobinurie s'intensifiait. Il est évident, disent Amberson et ses collaborateurs, qu'« il existe un parallélisme général entre cette excrétion et la pression osmotique colloïdale, quoique l'acidose terminale (comme l'ont montré ces mêmes auteurs) soit incontestablement un facteur d'accroissement de l'élimination rénale ».

A l'autopsie, tous les organes furent trouvés normaux, sauf les reins qui sont très gonflés, rouges sombre, presque noirs. En sectionnant l'organe et en exprimant les fragments, il s'écoulait un liquide qui, à l'examen spectroscopique, se montrait chargé en méthémoglobine.

Entre une injection d'hémoglobine de 1 à 30 cc. et le remplacement total du sang circulant par une solution d'hémoglobine, quelle que soit sa constitution minérale, il existe une large marge pour l'expérimentation et, de ce fait, nous revenons au problème posé par Delaunay qui cher-

chait à utiliser des milieux hémoglobinés dans le traitement d'hémorragies graves.

C'est en partant de ce principe que notre prédécesseur et ami François Sappey a effectué son travail, sous la haute direction de M. le Professeur Aubertin.

Cet auteur, après avoir vainement cherché à utiliser dans ce but les poudres commerciales d'hémoglobine, a préparé ses solutions à partir d'hématies de cheval convenablement lavées et lysées à 4° par de l'eau distillée. Il utilisa ces solutions sous trois concentrations différentes : à 14, 7 et 3,5 p. 100, les deux dernières concentrations étant obtenues par dilution de la première à l'aide d'une solution chlorurée à 18 p. 1.000. Il expérimenta sur des chiens après avoir réalisé chez ces animaux une anémie aiguë par saignée de 50 cc. de sang par kilogramme de poids du corps. Une telle saignée entraîne fréquemment la mort si l'on n'intervient pas. Les quantités de solutions d'hémoglobine injectées par cet auteur furent de la moitié du volume sanguin perdu.

Sappey arriva aux conclusions suivantes. Les animaux traités avec des solutions à 3,5 p. 100 survivent; mais ils présentent ultérieurement des troubles graves de la diurèse ainsi que de l'azotémie. La régénération globulaire est lente et irrégulière. Avec les solutions d'hémoglobine à 14 p. 100, on constate une amélioration très importante du comportement de l'animal après la saignée; les chiens sont en excellent état, mais présentent les jours suivants de la polyurie et de l'hyperazotémie. Tant que dure cette urémie, la régénération globulaire est suspendue.

Avec les solutions d'hémoglobine à 7 p. 100, l'état des animaux s'améliore nettement et on n'observe ultérieurement aucun trouble fonctionnel.

Avec des animaux témoins traités par du sérum physiologique, la mortalité est très élevée ou la convalescence est traînante.

Le travail de Sappey n'ayant fait qu'ébaucher la question

de l'hémoglobinothérapie, M. le Professeur Aubertin nous proposa de reprendre ce sujet avec plus d'ampleur et de précision.

Nous avons vu plus haut, qu'étant donné l'extrême diversité des conditions d'expérimentation qui ont présidé aux recherches antérieures sur l'hémoglobinothérapie, des conclusions assez différentes ont été indiquées par les auteurs. Les uns considèrent l'hémoglobine comme très toxique et ne parlent point de son activité physiologique. Les autres se sont surtout attachés à étudier cette dernière et ne se sont guère préoccupés de son pouvoir toxique.

Nous avons cherché si vraiment, des solutions d'hémoglobine pourraient être utilisées, *sans danger et avec efficacité*, dans le traitement des syndromes anémiques graves par hémorragie.

L'étude toxicologique et l'étude biologique de solutions d'hémoglobine utilisées à dose thérapeutique dans un tel but feront donc l'objet de deux importantes parties de ce mémoire. Dans une autre partie, nous rapporterons les recherches que nous avons faites sur le processus d'élimination, de dispersion et de résorption de l'hémoglobine injectée dans la circulation.

Ce travail a comporté nécessairement des recherches non seulement chimiques, physico-chimiques et biologiques, mais aussi histologiques, que nous avons pratiquées sous la haute direction de M. le Professeur Lacoste. Aussi, avant de commencer à exposer nos méthodes, nos expériences et nos résultats, nous paraît-il utile de relater les acquisitions qui ont été faites antérieurement à nous, à ce point de vue, sur la question qui nous occupe.

CHAPITRE II

Recherches antérieures sur les altérations anatomiques produites par l'hémoglobine administrée par voie parentérale.

De nombreuses recherches d'ordre histologique ont eu trait aux modifications tissulaires apportées par l'administration d'homo ou d'hétérohémoglobine aux animaux. Mais les divers travaux que nous avons pu consulter contiennent peu de renseignements sur les altérations lésionnelles produites par l'hémoglobine au sein des tissus.

En général, ce qui a retenu l'attention des expérimentateurs, c'est le problème de la destinée du pigment injecté et de ses mutations dans l'organisme. Pour cela ils ont utilisé, sous forme de globules rouges ou sous forme de solutions, des doses, généralement faibles, suffisantes pour l'étude de l'évolution histo-chimique des pigments sanguins mais inadéquates à la production de lésions organiques importantes.

Par exemple Adami, en 1885, constata un des premiers le dépôt d'hémoglobine dans l'espace de Bowman. Ribbert, à la même époque, après hémolyse *in vivo* de globules rouges sanguins sous l'influence d'injection d'eau dans les veines, montra la présence d'hémoglobine dans les espaces capsulaires des glomérules et dans la lumière des tubes contournés. Il en conclut que l'hémoglobine est éliminée par les glomérules. Silbermann admit au contraire que l'hémoglobine est excrétée par les cellules des tubes et que le dépôt glomérulaire constaté par Adami résultait d'un mouvement en arrière de l'urine hémoglobinique des tubes.

Tous ces auteurs ne décelèrent l'hémoglobine dans leurs préparations que grâce à sa coloration jaune. Mais ultérieurement, en appliquant la technique de Miller, Silbermann constata sa présence dans les cellules des tubes contournés et dans les cellules de la branche ascendante de l'anse de Henle, tandis que les espaces glomérulaires donnaient une réaction négative. De ces résultats, Silbermann conclut que les cellules sécrétoires des tubes étaient le siège principal du passage de l'hémoglobine dans les urines. Une critique de cette théorie fut élevée par Ribbert, mais c'est Baehr surtout qui essaya de concilier ces vues opposées et suggéra que la conception de Ribbert et d'Adami était correcte en ce sens que l'hémoglobine filtre bien à travers le glomérule et que l'hémoglobine intracellulaire découverte par Silbermann et Miller était le résultat de l'accumulation de cette substance dans ces cellules.

En 1923, Yoshu Fukuda et Oliver conclurent d'une façon absolue que l'élimination s'effectue par filtration à travers la capsule glomérulaire, mais aussi qu'il existe une quantité considérable d'hémoglobine dans certains tubes seulement. Ce fait ne peut s'expliquer, d'après eux, que de deux manières : soit par absorption de l'hémoglobine en même temps que de l'eau par ces cellules, soit au contraire par une fonction d'élimination propre de ce pigment pour certaines d'entre elles. Cette dernière hypothèse, pour eux, serait la plus vraisemblable et aussi la plus importante.

En 1932, Newman et Whipple montrèrent que, après injection d'hémoglobine, si le seuil rénal n'est pas atteint, on n'observe pas de pigment dans le rein; si au contraire ce seuil est dépassé, on observe le dépôt de pigments ferrugineux dans l'épithélium des tubes contournés, dépôt qui disparaît ultérieurement quand on cesse les injections. Ils constatèrent en même temps la présence d'un tel pigment, quelle que soit la valeur de l'injection, dans la rate, dans le foie et dans les ganglions mésentériques.

A la même époque, Lichty Havill et Whipple ont montré qu'en effectuant un grand nombre d'injections répétées de petites quantités d'hémoglobine, le seuil rénal de ce pigment était abaissé. La valeur la plus basse constatée est appelée « seuil de dépression » ou « seuil glomérulaire », mot qui exprime, d'après la conception des auteurs, que l'hémoglobine filtre à travers le bouquet glomérulaire dont les cellules jouent le rôle de barrière, établissant ainsi le seuil « rénal absolu ». Ils ont démontré en outre que l'hémoglobine, quand elle passe dans les tubes rénaux, est rapidement reprise et déposée en partie dans l'épithélium tubulaire. Sous l'influence d'injections répétées, l'épithélium ne peut absorber que de moins en moins d'hémoglobine, ce qui entraîne un abaissement du seuil rénal qui correspond finalement au seuil glomérulaire. Ils n'ont jamais constaté la présence de pigments ferrugineux dans l'épithélium tubulaire du rein quand l'hémoglobine est injectée quotidiennement à des doses inférieures au seuil rénal normal.

A peu près à la même époque, Furket et Saenz Arbelaez montrèrent que l'élimination des sels de fer d'une manière générale introduits dans la circulation sanguine s'effectue par filtration glomérulaire, avec résorption ultérieure d'eau par les tubes contournés.

En 1933, Bayliss Phyllis Tookey Kerridge et Dorothy Russel, s'attachant à étudier l'excrétion de protéines diverses par le rein, utilisèrent notamment l'hémoglobine et admirent que celle-ci était à la limite des substances à seuil et des substances sans seuil.

Shotsu, analysant les comportements des cellules hépatiques et du système réticulo-endothélial après injection d'hémoglobine, a montré que la fixation de ce pigment par l'organisme est liée à la « fraîcheur » des globules rouges ou de l'hémoglobine injectée. Avec des globules rouges anciens, conservés plusieurs jours à la glacière, il y a exclusivement emmagasinage dans les cellules hépatiques

où l'hémoglobine est rapidement transformée en bilirubine sans être prise par le système réticulo-endothélial. Au contraire, l'hémoglobine de globules rouges très frais est emmagasinée par le système réticulo-endothélial à l'exclusion du parenchyme hépatique.

Nous voyons donc par ce rapide aperçu que les auteurs ont borné leur étude au processus de l'élimination de l'hémoglobine, injectée généralement à dose telle que le seuil rénal soit à peine dépassé.

D'autres auteurs ont utilisé l'hémoglobine comme excitant fonctionnel de certaines cellules particulièrement intéressées par son passage dans l'organisme : les cellules hépatiques notamment, dans le but d'étudier par ce moyen les variations morphologiques de certains constituants cellulaires et de déceler ainsi la signification fonctionnelle de ces variations, ou encore de préciser le mode de formation des pigments biliaires.

Les recherches ayant eu pour but d'étudier les altérations cellulaires produites par le passage ou la fixation de l'hémoglobine dans les tissus semblent avoir été moins nombreuses que celles qui ont eu trait au mode d'élimination du pigment ou aux transformations subies par lui dans les tissus.

A la vérité, nous n'avons pu trouver que très peu de documents sur ce sujet. Dans l'important travail d'Amber-son cité au chapitre précédent, quelques examens histologiques assez sommaires seulement sont rapportés. Et en définitive, les mémoires les plus importants que nous ayions pu nous procurer sur la question paraissent être ceux de deux auteurs français, dont nous allons plus spécialement étudier les conclusions.

F. Granel effectua des injections sous-cutanées de solutions d'hémoglobine chez le cobaye à des doses uniques variant de 0,7 à 5 cc. d'une solution d'hémoglobine correspondant à 50 p. 100 de globules rouges. Plusieurs séries d'animaux furent ainsi réalisées. Les sujets ont été sacrifiés au bout de temps variant de vingt-quatre heures à douze

jours. En plus des phénomènes survenant dans le tissu conjonctif du foyer d'inoculation, Granel a étudié les modifications déterminées d'une part au niveau des organes à fonction martiale (foie et rate) et, d'autre part, au niveau des organes d'élimination (poumon et rein).

Le foie et la rate furent le siège des manifestations déjà connues d'arrêt et de destruction de l'hémoglobine; celle-ci est phagocytée par les cellules de Kuppfer, les macrophages spléniques, et transformée ensuite en pigment ocre ferrugineux, ou hémosidérine, dont la destinée ultérieure n'a d'ailleurs pas été suivie. Les réactions des cellules hépatiques ne sont rapportées que dans les cas d'administration de doses faibles (0,7 cc. de la solution) et au huitième jour de l'expérience. Ces éléments présentaient alors des signes d'hyperfonctionnement se traduisant par des variations de chromaticité du noyau et par la présence de plastes sidérophyles périnucléaires, peut-être en rapport avec la sécrétion biliaire; en tous cas, l'auteur n'a pas trouvé de pigments biliaires dans ces cellules.

Au niveau des organes d'élimination, les modifications observées ont varié selon que l'animal avait reçu une forte quantité d'hémoglobine (5 cc. de la solution) et avait été sacrifié précocement, ou que les doses avaient été plus fortes et la mise à mort retardée.

Dans ce dernier cas, on ne releva pas autre chose qu'une hyperactivation physiologique du fonctionnement des organes étudiés : poumon et rein.

Dans le premier cas au contraire, on rencontra des lésions indiscutables.

Au niveau du poumon, les injections fortes déterminèrent en vingt-quatre heures une forte réaction du parenchyme pulmonaire avec desquamation de l'épithélium respiratoire, épaissement considérable des parois alvéolaires gonflées par les capillaires distendus et l'afflux de cellules conjonctives. Granel s'est principalement occupé des effets des doses faibles (0,7 à 1 cc.) au bout de temps

variant entre trois jours et sept jours. Dans ces conditions, il n'a pas retrouvé les graves lésions signalées ci-dessus, mais il a pu observer des faits intéressants et nouveaux en rapport avec les mutations pigmentaires subies par l'hémoglobine au niveau du poumon et sur lesquelles nous aurons l'occasion de revenir ultérieurement. Il a pu montrer aussi que ces dérivés hémoglobiniques sont bloqués dans l'épithélium respiratoire qui se détache du revêtement alvéolaire, et finalement, sous forme de cellules à poussière, sont expulsés à l'extérieur par les voies respiratoires ou s'immobilisent après avoir pénétré dans les espaces conjonctifs eux-mêmes ou dans les ganglions du hile où ils ont accédé par les voies lymphatiques.

Les reins réagissent vivement dès la vingt-quatrième heure à des injections fortes. Les corpuscules de Malpighi sont indemnes; par contre, les segments à brosse et à bâtonnets (tubes contournés) sont le siège de modifications notables, visibles même avec les méthodes histologiques ordinaires. Il s'agit de disparition ou de dislocation partielle ou totale de la bordure en brosse avec pigmentation, essaimage des bâtonnets de Heidenhain et formation de grains acidophiles qui sont expulsés dans la lumière des tubes. Se basant sur ces aspects et sur le fait que les capillaires péritubulaires renferment une substance homogène se colorant comme l'hémoglobine par les méthodes courantes, l'auteur pose les conclusions suivantes : l'hémoglobine est éliminée au niveau du rein par un processus de sécrétion exocrine des cellules des tubes contournés.

Les segments sous-jacents des tubes urinaires, segment grêle, segment à bâtonnets, segment excréteur, ne présentent pas de lésions cellulaires, mais on retrouve dans leur lumière l'hémoglobine en voie d'élimination, sous forme d'amas ou de cylindres homogènes éosinophiles.

Ces diverses lésions sont fugaces et aux doses employées susceptibles de réparation complète en une douzaine de jours environ.

Granel fait remarquer enfin que dans les conditions précédentes, l'hémoglobine est rapidement éliminée au niveau des reins. De ce fait elle ne subit pas dans cet organe de transformations pigmentaires ou ses débris ne s'accumulent pas dans les cellules des tubes urinaires. Nous verrons qu'il n'en est pas de même avec les doses massives par voie intraveineuse que nous avons utilisées.

En tous cas, du point de vue de la toxicité de l'hémoglobine plus spécialement envisagée ici, les expériences de Granel montrent l'agressivité de ce pigment pour les organes d'élimination, même quand il s'agit d'homohémoglobine, utilisée à des doses relativement peu élevées et dans des conditions d'absorption modérément rapides.

Les recherches de P. de Boissezon ont trait aux modifications histologiques observées dans quelques organes du lapin au cours de l'immunisation contre les hématies du mouton.

Dès lors, le problème envisagé par l'auteur est tout différent de celui qui nous occupe présentement. Aussi, malgré le mérite de son travail, nous n'en retiendrons que peu de chose.

L'immunité recherchée a nécessité l'administration d'assez fortes quantités de globules rouges centrifugés et lavés (9 cc. en trois injections intraveineuses répétées à quatre jours d'intervalle) et elle fut réalisée en quatre à cinq jours après la dernière injection.

Dans ces conditions, l'auteur a obtenu, en ce qui concerne l'arrêt et les mutations hépatiques et spléniques de l'hémoglobine, des images corroborant dans l'ensemble les faits déjà acquis sur ce point. En outre, il a montré que le foie réagit nettement suivant la quantité des hématies injectées et les susceptibilités individuelles des sujets; ces relations varient de la simple clarification cellulaire centro-lobulaire ou en îlots jusqu'à l'hépatite graisseuse centro-lobulaire d'élimination. On trouve du pigment ocre non seulement dans les cellules de Kupfer, mais aussi dans les cellules

hépatiques. Les poumons sont le siège d'une réaction importante caractérisée par un énorme épaissement des parois alvéolaires congestionnées et peuplées de cellules lymphoïdes et de polynucléaires éosinophiles. L'auteur croit que ces lésions sont en rapport avec les processus d'arrêt et d'élimination de l'hémoglobine et le travail d'immunisation auquel le poumon participe. Par ailleurs, de Boissezon a relevé des aspects pulmonaires de transformation pigmentaire de l'hémoglobine qui concordent avec ceux de Granel.

Enfin, caractère négatif important dans les conditions expérimentales où il s'est placé, de Boissezon a trouvé que les reins ne réagissaient que faiblement. Il existait de l'urobiline et des pigments biliaires dans l'urine, mais jamais de l'hémoglobine en nature. Il trouva des lésions légères des tubes contournés consistant en une congestion sous-corticale notable, avec œdèmes intertubulaires, altération de la bordure en brosse et de l'appareil de Golgi sans modification du chondriome : il s'agissait au total d'une simple irritation rénale due à l'élimination de l'urobiline et des pigments biliaires.

DEUXIÈME PARTIE

PRÉPARATION DE NOS SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE ET TECHNIQUES OPÉRATOIRES

CHAPITRE PREMIER

Préparation des solutions d'hémoglobine dans de l'eau distillée à partir de sang frais

Pour préparer nos solutions d'oxyhémoglobine, nous nous sommes adressés au sang de deux animaux différents : le cheval et le chien.

Le cheval a l'avantage de fournir une grande quantité de sang ; mais l'hémoglobine obtenue est une hétérohémoglobine, notre expérimentation portant uniquement sur des chiens. Aussi avons-nous également utilisé des solutions d'homohémoglobine préparées à partir de sang de chien.

Le sang et l'hémoglobine étant très facilement décomposés en produits toxiques, comme nous l'avons constaté dans un certain nombre de cas, où toutes les précautions d'aseptie n'avaient pas été prises tout au long de la préparation, nous avons toujours opéré par la suite en milieu rigoureusement stérile depuis la saignée du donneur jusqu'à l'injection de la solution d'hémoglobine au receveur.

Il ne suffit pas en effet, surtout si les manipulations entraînent un peu en longueur, de faire une stérilisation terminale qui ne saurait éliminer les substances pathogènes

nées auparavant aux dépens de l'hémoglobine ayant subi un début de transformation par les microbes.

I. — SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL

1° *Récolte du sang.* — Nous avons fait nos prélèvements sur des chevaux normaux de l'Institut Pasteur municipal de Bordeaux. La technique employée fut la suivante :

Le matériel nécessaire est constitué d'un fort trocart avec mandrin, d'un long tube de caoutchouc armé à l'une de ses extrémités d'un embout adaptable au trocart, et de flacons de 1.500 cc., contenant des billes de verre et fermés par un tampon de coton, traversé par une canule que l'on peut aisément insérer dans l'autre extrémité du tube de caoutchouc.

Le cheval étant à jeun depuis douze heures, on le ponctionne à la jugulaire avec le trocart muni de son mandrin et, ce dernier enlevé, on met le trocart en communication avec le flacon récepteur. Il faut remuer ce dernier pendant que le sang coule et veiller à ne pas le remplir au delà des $\frac{2}{3}$ afin de pouvoir agiter plus efficacement par la suite. Il est très facile de recueillir ainsi du sang dans plusieurs flacons au cours d'une même saignée, sans faire de fautes d'aseptie, puisqu'il suffit de retirer l'extrémité du tube de caoutchouc de la canule d'un premier récipient et de l'adapter à celle d'un second, et de celle d'un second à celle d'un troisième et ainsi de suite, ce qui peut se faire sans que les surfaces intérieures des conduits soient souillées.

Lorsque les flacons sont convenablement remplis, on enlève leur bouchon de coton et on les remplace par des bouchons de caoutchouc plein, puis on secoue vigoureusement les récipients jusqu'à défibrination complète. Le temps nécessaire est d'au moins vingt minutes.

Au lieu de défibriner par agitation en présence de perles de verre, nous avons essayé d'utiliser le citrate de soude

comme anticoagulant, mais les résultats ne furent pas bons. Les globules sédimentent mal, dans ces conditions, et les solutions d'hémoglobine, malgré les lavages successifs des hématies, restent visqueuses.

La défibrination étant faite, on sépare le sang des coagulats de fibrine par filtration sur une toile métallique stérile à mailles très serrées et on laisse sédimenter les hématies, puis on décante soigneusement le plasma par aspiration à travers une pipette Pasteur reliée à un gros récipient stérile, lui-même en relation avec une trompe à eau.

2° Lavage des hématies. — On remplace alors le sérum enlevé par de l'eau salée à 9 p. 1.000. On mélange; on répartit dans des tubes à centrifuger bouchés, d'une capacité unitaire de 250 cc., et on centrifuge une demi-heure. Puis on enlève le liquide surnageant par aspiration comme il a été indiqué ci-dessus. A la partie supérieure du culot d'hématies se trouve un mince voile de globules blancs qu'on élimine également.

On remplace l'eau de lavage rejetée par une nouvelle quantité équivalente de sérum physiologique; on homogénéise, et on centrifuge à nouveau.

L'opération est renouvelée trois fois de suite. On obtient finalement un culot d'hématies lavées.

3° Transformation des hématies en solution d'hémoglobine. — Pour extraire des hématies lavées l'hémoglobine, il suffit d'ajouter dans chaque tube un volume d'eau distillée glacée au moins égal au volume des hématies.

Nous avons toujours utilisé de l'eau glacée, parce que l'hémolyse est ainsi plus totale et plus complète comme l'a montré Amberson. Elle s'effectue d'ailleurs très rapidement.

Nous avons également toujours ajouté à nos solutions, aussitôt après l'addition d'eau glacée, 1/10^e du volume total d'éther sulfurique. Cette pratique, recommandée par Frouin en 1907, a pour but d'enlever à l'hémoglobine la propriété de former des hémolysines spéci-

fiques par injection à des animaux d'espèces différentes.

Après avoir agité soigneusement le mélange, au bout de dix minutes, on centrifuge pour éliminer les débris d'hématies et les albumines précipitées.

Le liquide surnageant est une solution d'oxyhémoglobine dont le titre varie de 14 à 18 p. 100 selon les chevaux dont provient le sang. Il est aisé éventuellement de ramener de telles préparations à des titres inférieurs par simple dilution.

Pour éliminer l'éther de nos solutions, nous les mettions simplement, au début, en bloc, dans un Kitasato en relation avec une trompe à eau. C'est le procédé qu'employait Sappey. Mais nous nous sommes rapidement rendu compte qu'il était infidèle. Et les phénomènes d'excitation qu'a constatés cet auteur chez les chiens auxquels il venait d'injecter des solutions ainsi préparées étaient dus à ce qu'elles contenaient encore de l'éther. Certains accidents toxiques surajoutés à ceux de l'hémoglobine semblent également pouvoir résulter de cette insuffisance de désétherisation.

D'autre part, la centrifugation même prolongée des solutions ne permet pas d'éliminer complètement par simple décantation toutes les capsules globulaires. Le culot de telles solutions, centrifugées « à mort », montre encore leur présence, ainsi que celle de petits cristaux sur lesquels nous reviendrons ultérieurement.

Pour éviter ces inconvénients, nous avons en principe opéré de la façon suivante :

La solution d'hémoglobine est placée dans un filtre Seitz sur lequel on a monté un filtre filtrant, le tout stérilisé. Au bec inférieur de l'armature métallique du filtre, on adapte un Kitasato attelé par ailleurs à une pompe à vide électrique. Par aspiration l'hémoglobine filtre, tombe goutte à goutte et, sous l'influence du vide très poussé, chaque goutte est débarrassée instantanément, durant le temps de sa chute, de l'éther qu'elle contenait en solution.

L'action du vide est même telle qu'une partie de l'oxygène combiné à l'hémoglobine est lui-même éliminé, et que l'on obtient des solutions brun rougeâtre; quand toute l'hémoglobine est filtrée, une simple agitation au contact d'air filtré sur coton redonne à la solution sa couleur purpurine.

Les filtres Seitz filtrants ne suffisent pas à assurer la stérilisation. Or, pour réaliser des préparations d'hémoglobine telles qu'il est indiqué ci-dessus, les manipulations sont nombreuses et délicates, nécessitant parfois des transvasements. Des souillures, malgré les précautions prises, peuvent être apportées. Afin d'éviter ces inconvénients, nous avons procédé, chaque fois qu'il fut possible de le faire, à une stérilisation de ces solutions par deuxième filtration sur filtre stérilisant cette fois, en nous mettant d'ailleurs dans les mêmes conditions d'aspiration que ci-dessus.

L'expérience nous a permis de faire les remarques suivantes :

a) Les solutions filtrées perdent généralement $1/10^e$ de leur teneur en hémoglobine : de là la nécessité de n'ajuster la solution d'hémoglobine qu'après stérilisation.

b) La filtration des solutions à 14 p. 100 s'effectue avec une extrême lenteur. Il faut environ six heures pour obtenir 100 à 150 cc. Comme nous avons besoin d'un volume souvent beaucoup plus important pour nos expériences, nous n'avons pu stériliser nos préparations d'hémoglobine à 14 p. 100, d'autant plus qu'à la longue le filtre Seitz se laisse traverser par les germes et que l'opération n'offre plus aucune garantie. Etant donné la facilité d'altération de l'hémoglobine, nous nous sommes astreints, dans ces conditions, à utiliser les fortes solutions dans les douze heures suivant la fin de leur préparation. Pendant tout ce temps elles étaient maintenues à une température de $+ 4^{\circ}$.

Les solutions d'oxyhémoglobine de titre voisin de 7 ou 3 p. 100 filtrent parfaitement. On obtient en moyenne 500 cc. en trois heures. La température extérieure joue d'ailleurs

un rôle important à cet égard. Des filtrations effectuées certains jours d'hiver dans le laboratoire non chauffé s'avérèrent interminables. Comme nous le verrons plus loin, c'est une simple question de viscosité.

c) Des bouillons de cultures solides et liquidesensemencés avec de telles solutions d'hémoglobine après chaque préparation n'ont jamais poussé, même au bout de plusieurs jours.

d) Avant l'usage, la solution d'hémoglobine fut toujours agitée en présence d'air filtré sur coton. Le titre en fut déterminé par l'hémoglobinimètre de Zeiss. Des dosages de l'oxygène combiné, effectués avec l'appareil d'Haldane, ont montré que toute l'hémoglobine était sous forme d'oxyhémoglobine, ainsi que nous le verrons ultérieurement.

II. — SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE DE CHIEN

En principe la méthode que nous avons employée fut identique à celle que nous avons mentionnée pour l'hémoglobine de cheval. Les particularités suivantes sont cependant à signaler.

1° *Récolte du sang.* — Le sang de chien coagulant très vite, il n'est pas facile de le défibriner par agitation en présence de perles de verre comme on peut le faire pour le sang de cheval, et d'autant moins que l'on obtient la quantité de sang désirable bien moins aisément qu'avec ce dernier animal. Aussi avons-nous recueilli le sang de chien en présence de citrate de soude.

La technique que nous avons utilisée fut la suivante :

Le matériel nécessaire est constitué de ballons d'un litre contenant du citrate de soude à 5 p. 100 à raison de 10 cc. pour 100 cc. de sang à recueillir. Ces ballons sont fermés par un bouchon de caoutchouc percé d'un tube de verre sur lequel on greffe un tube de caoutchouc aussi court que possible et qui est en rapport à l'autre extrémité avec une

aiguille à ponction veineuse. Sur le flanc du ballon se trouve une tubulure latérale par laquelle on peut faire une aspiration pour faciliter l'écoulement sanguin dans le récipient.

La veine fémorale étant dénudée, avec toutes les précautions d'asepsie nécessaire, il suffit alors de la ponctionner avec l'aiguille de l'appareillage qui vient d'être indiqué et de réaliser une dépression dans l'intérieur du ballon pendant toute la saignée. Il est bon de remuer le récipient sans arrêt pour assurer le mélange du sang avec le citrate de soude.

2° *Lavage et transformation des hématies en solution d'hémoglobine.* — Le sang ainsi recueilli est traité de la même façon que le sang de cheval. Toutefois, la séparation de la fibrine doit être opérée par filtration sur un tamis encore plus serré, du fait de la présence, malgré le citrate, de caillots sanguins.

3° *Remarques sur les solutions d'oxyhémoglobine de chien de titre supérieur à 12 p. 100.* — Nous avons utilisé dans nos expériences chez le chien des solutions d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100, 6,5 p. 100 et 3,5 p. 100. Voulant comparer l'effet de ces solutions d'hétérohémoglobine avec des solutions d'homohémoglobine, nous avons cherché à obtenir des préparations d'hémoglobine de chien de titre identique.

La chose fut très aisée pour les solutions à 3,5 p. 100, 6 ou 7 p. 100, qui sont organolytiquement identiques à celles de cheval. Il en fut tout autrement pour les solutions de titre supérieur à 12 p. 100.

De telles solutions d'hémoglobine de chien conservées à la glacière s'altèrent dans les douze heures, même sans aucune souillure bactérienne. Au bout de ce temps, on constate en effet que la solution a précipité, et cela d'autant plus qu'elle était plus concentrée. Pour une concentration de 14 p. 100, le volume total est entièrement pris en masse.

De telles solutions centrifugées présentent deux couches :

Une couche supérieure liquide ayant tous les caractères extérieurs de la solution d'oxyhémoglobine primitive, mais qui a perdu de son titre primitif. Si le taux initial est de 14 p. 100, par exemple, celui du liquide surnageant n'est plus que de 10 environ.

Une couche inférieure de consistance gélatineuse amorphe, visqueuse, de coloration cerise.

Un examen très sommaire de ce précipité nous a montré qu'il était constitué par une substance soluble dans l'eau, mais relativement peu soluble. La solution aqueuse saturée possède un titre en hémoglobine de 2,4 p. 100. Une telle solution précipite par des électrolytes, par les réactifs généraux des albuminoïdes.

Examinée au microscope, elle se montre de nature cristalline. Les cristaux sont longs, grêles, prismatiques, tronqués à chaque extrémité. En présence d'eau, les angles s'arrondissent et les cristaux se dissolvent.

Ils ont le même aspect organoleptique que ceux que l'on trouve dans le culot de centrifugation des solutions concentrées d'hémoglobine de cheval.

Une étude plus approfondie de cette substance sortant du cadre de ce travail, nous n'en avons pas poussé plus loin l'expérimentation.

Disons simplement que nous n'avons pas utilisé dans nos expériences de comparaison de solution ainsi précipitée; et que par suite nous nous sommes contentés d'opérer avec des préparations d'hémoglobine de chien à 7 et à 3,5 p. 100.

CONCLUSIONS

Les techniques précédemment exposées nous ont permis d'obtenir des solutions d'hétéro ou d'homohémoglobine pure dans l'eau distillée. Mais comme nous nous proposons d'injecter ces solutions dans la circulation chez le chien, nous devons chercher à étudier leurs propriétés physico-chimi-

ques, à les comparer avec celles du plasma sanguin de cet animal, et à les rapprocher de ces dernières, dans la mesure du possible, en modifiant leur composition.

Amberson, Flexner, Steggerda, Mulder, Marton, Tendler, Zankratz et Lang dans leur travail auquel nous avons déjà fait allusion ont utilisé une formule de liquide de Ringer. Locke hémoglobiné, dont la composition avait été fixée en 1898 par Abderhalden après des recherches sur les constantes chimiques du plasma de divers animaux. Cette formule est la suivante :

Hémoglobine	130 à 140 gr.	p. 1.000
Ions Na	3 gr. 70	p. 1.000
Ions K	0 gr. 36	p. 1.000
Ions Ca	0 gr. 10	p. 1.000
Ions Cl.	4 gr. 95	p. 1.000
Ions P O ⁴	0 gr. 50	p. 1.000
Ions C O ³ H	1 à 1 gr. 40	p. 1.000

Les auteurs précédents ont opéré avec de l'hémoglobine de bœuf chez le chat, le chien et le lapin. Comme nous avons expérimenté nous-même uniquement chez le chien avec de l'hémoglobine de cheval, nous avons pensé qu'il était préférable de reprendre toute cette étude à la base, dans le cadre que nous nous étions tracé; et d'autant plus que les déterminations précédentes sont déjà anciennes et de plus incomplètes puisqu'elles n'ont pas trait aux constantes physico-chimiques.

Ceci nous a amené à faire un certain nombre de recherches sur l'abaissement cryoscopique, la densité, la tension superficielle, la viscosité, la pression osmotique colloïdale, le pH et la teneur en sels minéraux du plasma de chien et de nos solutions d'hémoglobine de titres divers, et à ajuster celles-ci, autant que faire se peut, aux conditions physiques et chimiques du milieu circulant de cet animal.

Ce sont ces recherches que nous allons exposer dans les chapitres suivants.

CHAPITRE II

Ajustement des solutions d'hémoglobine dans l'eau distillée à un abaissement cryoscopique correspondant à celui du plasma sanguin de chien.

Nous avons utilisé un cryoscope ordinaire, le refroidissement étant obtenu par l'évaporation d'une masse d'éther

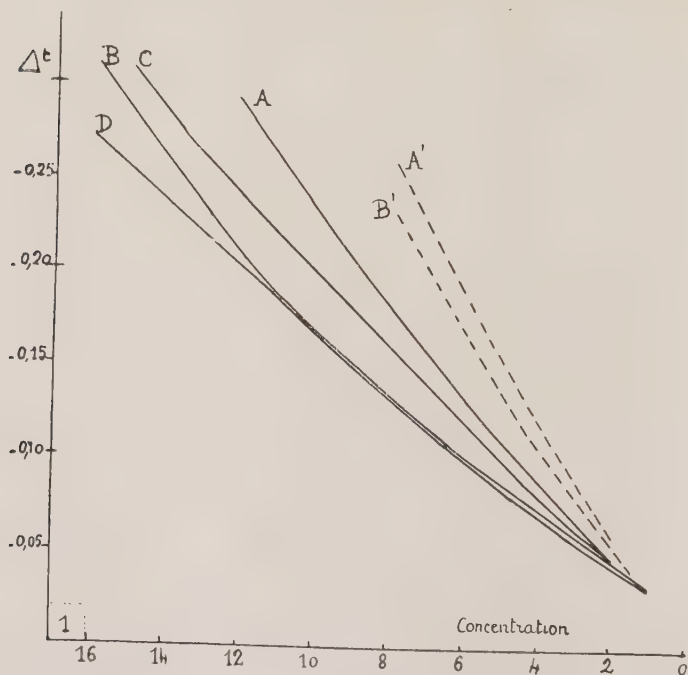


FIG. 1. — Graphique montrant la variation des abaissments cryoscopiques de solution d'oxyhémoglobine en fonction de la concentration.

(En traits pleins : hémoglobine de cheval. — En tirets : hémoglobine de chien.)

sulfurique sous l'influence d'un violent courant d'air.

Les mesures furent effectuées selon les prescriptions requises sur quatre échantillons d'hémoglobine de cheval, deux d'hémoglobine de chien et six de plasma de chiens normaux.

a) Les abaisséments cryoscopiques obtenus pour les solutions d'oxyhémoglobine sont illustrés par les courbes de la figure 1 et se trouvent récapitulés dans le tableau ci-dessous (tableau I).

TABLEAU I

TABLEAU DES ABAISSEMENTS CRYOSCOPIQUES DE SOLUTION
D'OXYHÉMOGLOBINE A DIFFÉRENTS TITRES.

TITRE	HÉMOGLOBINE CHEVAL				MOYENNES	HÉMOGLOBINE CHIEN	
	A	B	C	D		A'	B'
16		0,31		0,27	0,29		
15		0,28	0,31	0,26	0,28		
14		0,26	0,28	0,24	0,26		
13		0,24	0,26	0,22	0,24		
12	0,29	0,21	0,24	0,20	0,23		
11	0,26	0,19	0,22	0,18	0,21		
10	0,23	0,17	0,20	0,17	0,19		
9	0,21	0,15	0,18	0,15	0,17		
8	0,19	0,14	0,16	0,14	0,16	0,26	0,23
7	0,16	0,12	0,14	0,12	0,13		0,20
6	0,13	0,10	0,12	0,10	0,11	0,20	0,17
5	0,11	0,09	0,10	0,09	0,10		0,13
4	0,09	0,07	0,08	0,08	0,08	0,12	0,10
3	0,07	0,06	0,06	0,07	0,07	0,09	0,08
2	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06
1	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03		0,03

b) L'abaissement cryoscopique dans le plasma sanguin des chiens normaux a été trouvé égal à des valeurs de — 0,57 à — 0,58. Les expériences ont porté sur six chiens.

CONCLUSIONS

D'après ces résultats, on voit que l'abaissement cryoscopique est à peu près, pour des solutions d'oxyhémoglobine de cheval à 14, 7 et 3,5 p. 100, respectivement la moitié, le $1/5^e$ et le $1/8^e$; et pour celles de chien à 7 et 3,5 p. 100, respectivement le $1/4$ et le $1/6^e$ de celui du plasma sanguin de chien.

Les variations du Δt d'un échantillon à l'autre sont relativement peu importantes. Elles semblent dues pour la majeure partie aux petites quantités de chlorure de sodium qui sont restées dans le culot d'hématies après la dernière décantation du sérum physiologique utilisé pour le troisième lavage de celles-ci, et à la plus ou moins grande quantité de sels minéraux que contenaient les globules rouges avant leur lyse.

Les teneurs en chlore, exprimées en chlorure de sodium, de chaque échantillon d'hémoglobine furent trouvées de :

Echantillon A	2 gr. 70 p. 1.000
— B	2 gr. 10 p. 1.000
— C	2 gr. 40 p. 1.000
— D	1 gr. 80 p. 1.000

L'abaissement cryoscopique dans les solutions d'hémoglobine n'est donc pas dû entièrement à cette hémoglobine, mais également à toutes les autres substances minérales ou organiques en solution avec elle. N'oublions pas en effet que ce que nous appelons solution d'hémoglobine est en réalité une solution constituée par les parties solubles du proto-plasma des hématies laquées.

Il résulte de ces recherches qu'aucune préparation d'hémoglobine, quel que soit son titre, n'est isotonique au plasma sanguin du chien. Il faudra donc ajouter une certaine quantité de chlorure de sodium pour arriver à obtenir l'isotonicité.

Pour faciliter la détermination de la quantité de sel à

ajouter, nous avons mesuré dans les mêmes conditions les abaisséments cryoscopiques de solution de chlorure de sodium à différents titres. Voici les résultats obtenus :

Cl Na p. 1.000 :		
10 p. 1.000		0° 62
9 p. 1.000		0° 56
8 p. 1.000		0° 51
7 p. 1.000		0° 45
6 p. 1.000		0° 39
5 p. 1.000		0° 33
4 p. 1.000		0° 27
3 p. 1.000		0° 20
2 p. 1.000		0° 13
1 p. 1.000		0° 08

L'abaissement cryoscopique du plasma sanguin de chien correspond à une solution de 9 gr. 30 p. 1.000 de chlorure de sodium.

Pour déterminer la quantité de chlorure de sodium à ajouter à une solution d'hémoglobine de titre connu, afin de la rendre isotonique avec le plasma sanguin du chien, on procède de la façon suivante :

La courbe des abaisséments cryoscopiques des solutions aqueuses de Cl Na étant effectuée une fois pour toutes sur papier millimétrique à l'aide des chiffres ci-dessus (fig. 2), on mène sur ce graphique une verticale au point figuratif représentant l'abaissement cryoscopique correspondant à la concentration de 9,3 p. 1.000 de chlorure de sodium, soit — 0,58 (a A), et une autre verticale au point correspondant à l'abaissement cryoscopique de la concentration désirée (b B par exemple). Ces deux verticales coupent la ligne des abaisséments cryoscopiques en deux points, respectivement A et B. Du point B on mène une horizontale qui coupe la première verticale a A en C. La valeur A C représente la quantité de Cl Na à ajouter à 1.000 cc. de la dilution cherchée pour la rendre isotonique au plasma sanguin du chien.

Voici ci-après à titre d'exemple les quantités de Cl Na qu'il faut ajouter à 1.000 cc. de solutions d'hémoglobine de cheval, à 14, 7 et 3,5 p. 100, pour les rendre isotoniques au plasma sanguin de chien.

Solution de 14 p. 100		5 gr. 40 de Cl Na p. 1.000
Solution de 7 p. 100		7 gr. 60 de Cl Na p. 1.000
Solution de 3,5 p. 100		8 gr. 30 de Cl Na p. 1.000

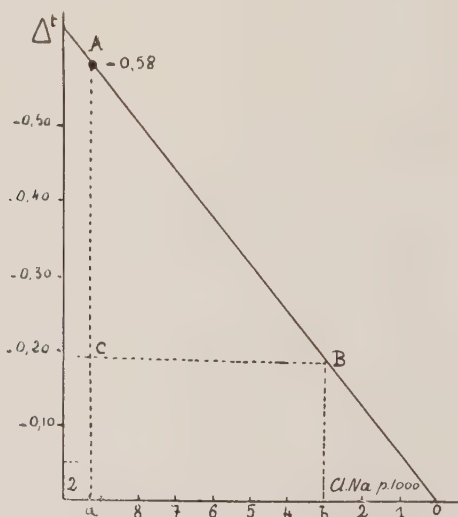


FIG. 2. — Graphique permettant l'ajustement du Δt d'une solution d'hémoglobine à celui du plasma sanguin de chien.

En résumé, aucune solution aqueuse d'hémoglobine ne peut être considérée comme isotonique au plasma sanguin.

Pour rendre ces solutions isotoniques, il faut leur ajouter des quantités déterminées de ClNa. Ces quantités peuvent être aisément calculées en fonction des données que nous venons d'établir.

CHAPITRE III

Ajustement des solutions d'hémoglobine dans l'eau distillée à une densité correspondant à celle du plasma sanguin de chien.

Nous avons déterminé les densités avec la balance de Mohr, et avec la méthode du flacon selon les précautions habituelles, et à 37°.

1° DENSITÉ DES SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL

Les chiffres que nous avons obtenus sont consignés dans le tableau II suivant.

TABLEAU II

TABLEAU DES DENSITÉS DES SOLUTIONS AQUEUSES D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL A DIFFÉRENTS TITRES, A 37°.

ÉCHANTILLON I		ÉCHANTILLON II		ÉCHANTILLON III	
Titre	Densité	Titre	Densité	Titre	Densité
14 %	1,046	16 %	1,057	15 %	1,049
12,7 %	1,036	14,4 %	1,045	13,5 %	1,044
11,5 %	1,033	12,8 %	1,042	12 %	1,039
10,5 %	1,031	11,2 %	1,036	10,5 %	1,034
8,7 %	1,027	9,8 %	1,033	9 %	1,029
7,3 %	1,023	6,4 %	1,024	7,5 %	1,025
4,8 %	1,016	3,2 %	1,013	6 %	1,020
3,2 %	1,009	1,6 %	1,008	4,5 %	1,015
				3 %	1,010
				1,5 %	1,005

TABLEAU II (suite)

ÉCHANTILLON IV		ÉCHANTILLON V		ÉCHANTILLON VI	
Titre	Densité	Titre	Densité	Titre	Densité
16 %	1,054	16,2 %	1,040	18,2 %	1,060
14,1 %	1,046	8,1 %	1,018	9,1 %	1,028
12,8 %	1,042	4 %	1,010	4,5 %	1,012
11,2 %	1,037				
9,6 %	1,032				
8 %	1,026				
6,4 %	1,021				
4,8 %	1,016				
3,2 %	1,011				
1,6 %	1,006				

Les chiffres du tableau II sont illustrés par les courbes de la figure 3. Si, à partir de solutions mères à 16 ou 18 p. 100,

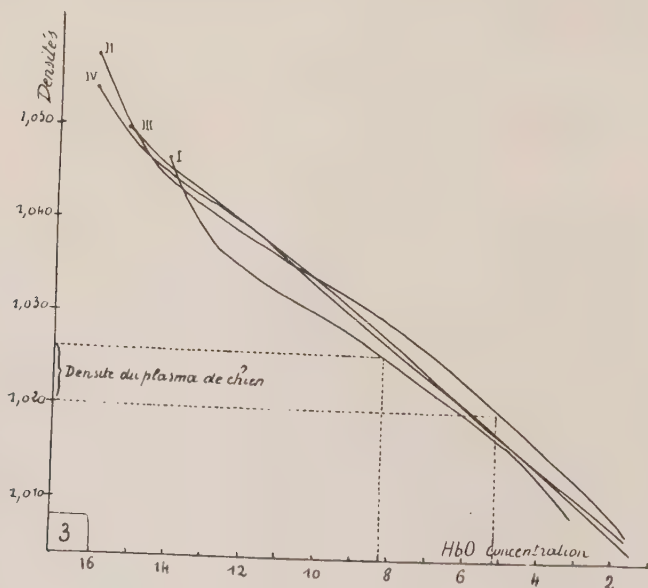


Fig. 3. — Graphique montrant la variation de la densité de solutions aqueuses d'oxyhémoglobine en fonction de la concentration.

on effectue des dilutions au $1/10^e$ successives, on constate que la diminution de la densité est plus rapide pour les

premières dilutions que pour les dilutions ultérieures. Nous avons toutefois vérifié qu'il n'y avait pas contraction du volume total après addition d'eau.

2° DENSITÉ DES SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE DE CHIEN

Les chiffres que nous avons obtenus sont consignés dans le tableau III.

TABLEAU III

TABLEAU DES DENSITÉS DES SOLUTIONS AQUEUSES D'HÉMOGLOBINE DE CHIEN A DIFFÉRENTS TITRES, A 37°.

ÉCHANTILLON I		ÉCHANTILLON II		ÉCHANTILLON III	
Taux	Densité	Taux	Densité	Taux	Densité
8,2	1,035	7,0	1,030	9,2	1,039
4,1	1,018	3,5	1,017	4,6	1,022
2,0	1,009	1,2	1,005	2,3	1,011

3° DENSITÉ DU PLASMA DE SANG DE CHIEN

Quelques mesures furent faites chez différents chiens. Les résultats sont les suivants, toujours à 37° :

1,020 1,026 1,021 1,024 1,023 1,021
Moyenne : 1,0227

CONCLUSIONS

D'après ces données, on constate que les solutions d'oxy-hémoglobine de cheval de concentration supérieure à 8 p. 100 ont une densité plus élevée que celle du plasma sanguin.

Les solutions de concentration inférieure à 5 p. 100 ont une densité moins élevée; mais celles de concentration comprise entre ces deux valeurs, sont dans les limites de variation des densités du plasma sanguin.

Le titre idéal d'une solution d'hémoglobine à ce point de vue semble être de 6,5 p. 100.

CHAPITRE IV

Recherches de la correspondance de la tension superficielle du plasma sanguin de chien, avec les solutions d'hémoglobine à différents titres.

N'ayant point à notre disposition l'appareil si pratique et si précis du Comte de Nouy, nous n'avons pu effectuer cette détermination qu'avec un compte-goutte de Duclaux.

De ce fait, les mesures indiquées ne sont guère précises, vu le faible nombre de gouttes comptées au-dessus de 100.

Ces déterminations ne sont donc malheureusement qu'approximatives. Nous notons cependant une assez bonne concordance entre les différents résultats obtenus.

Nous avons effectué nos mesures sur cinq échantillons d'hémoglobine de cheval; trois d'hémoglobine de chien; et six de plasma sanguin de chien.

Les résultats sont consignés dans le tableau IV ci-dessous.

NOTA. — 1° Les résultats sont exprimés en dynes-centimètres.

2° Ne possédant pas de chambre-étuve, et n'étant pas sûrs de ce fait d'opérer à 37°, nous avons travaillé à la température du laboratoire. Les références thermométriques sont indiquées pour chaque série de dosage.

CONCLUSIONS

Sous réserve de ce que nous venons d'indiquer, les solutions d'oxyhémoglobine se rapprochant le plus au point de

vue tension superficielle de celle du plasma sanguin, sont à des concentrations voisines de 6,5 p. 100.

Les solutions d'homohémoglobine donnent des valeurs identiques à celles obtenues avec l'hémoglobine de cheval.

TABLEAU IV

TABLEAU DES TENSIONS SUPERFICIELLES DE SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL ET DE CHIEN ET DU PLASMA SANGUIN DE CHIEN

a) *Hémoglobine de cheval*

Taux	T. S.	Taux	T. S.	Taux	T. S.
14 %	66,03	16 %	65,68	16 %	65,72
12,7 %	66,66	14,4 %	66,28	14,4 %	66,03
11,5 %	67,54	12,8 %	66,92	12,8 %	66,84
10,5 %	67,99	11,2 %	67,74	11,2 %	67,77
8,7 %	68,93	9,6 %	68,10	9,6 %	68,04
7,3 %	69,90	6,4 %	69,99	8 %	68,56
4,8 %	70,70	3,2 %	71,84	6,4 %	69,77
3,2 %	71,54	1,6 %	73,52	4,8 %	70,71
				3,2 %	71,70
				1,6 %	75,44

Temp. : 19°

Temp. : 18° 5

Temp. : 16°

Taux	T. S.	Taux	T. S.
18,2 %	64,4	16,2 %	65,2
9,1 %	68,5	8,1 %	69,0
4,5 %	71,6	4 %	70,9

Temp. : 18°

Temp. : 16° 5

b) *Hémoglobine de chien*

Taux	T. S.	Taux	T. S.	Taux	T. S.
8,2 %	68,31	7 %	69,84	9,2 %	69,31
4,1 %	71,32	3,5 %	72,41	4,6 %	71,02
2 %	73,01	1,2 %	74,62	2,3 %	73,64

Temp. : 17°

Temp. : 18°

Temp. : 16° 5

c) *Plasma sanguin de chien : T. S.*

70,9 (20°) 71,4 (17°) 69,7 (18°) 69,9 (16°) 69,8 (16°) 69,9 (16°)

Moyenne : 70,3

CHAPITRE V

Recherches de la correspondance des viscosités du plasma sanguin de chien avec nos solu- tions aqueuses d'oxyhémoglobine à différents titres.

Devant l'imprécision des résultats obtenus avec le viscosimètre de Hess, nous avons préféré utiliser le viscosimètre d'Oswald, obligeamment prêté par M. le Professeur Wangermez.

Nous avons opéré dans un thermostat à 37°, en tenant

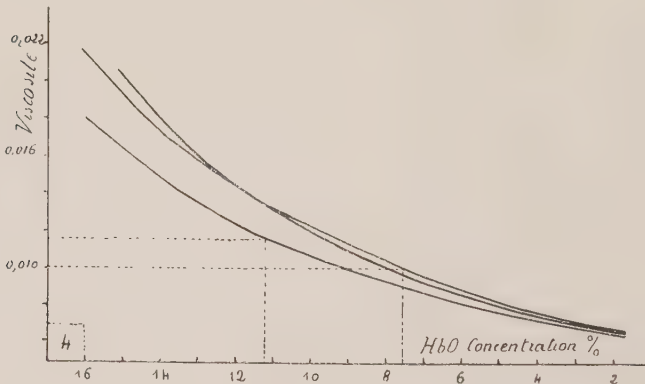


FIG. 4. — Graphique montrant la variation de la viscosité des solutions aqueuses d'oxyhémoglobine en fonction de la concentration.

compte des précautions habituelles. Chaque résultat obtenu est la moyenne de trois déterminations. Ces résultats sont exprimés en dynes-centimètres.

Nos recherches ont porté sur trois échantillons de solu-

tions d'hémoglobine de cheval; trois de solutions d'hémoglobine de chien; et cinq de plasma sanguin de chien.

Les résultats sont consignés dans le tableau V et illustrés par les courbes de la figure 4.

TABLEAU V

TABLEAU DES VISCOSITÉS DES SOLUTIONS D'OXYHÉMOGLOBINE

a) *Hémoglobine de cheval*

Titre	Viscosité	Titre	Viscosité	Titre	Viscosité
16 %	0,0180	15 %	0,0210	16 %	0,0222
14,4 %	0,0158	13,5 %	0,0166	14,4 %	0,0174
12,8 %	0,0129	12 %	0,0144	12,8 %	0,0157
11,2 %	0,0117	10,5 %	0,0126	11,2 %	0,0138
9,6 %	0,0106	9 %	0,0111	9,6 %	0,0125
6,4 %	0,0086	7,5 %	0,0100	8 %	0,0110
3,2 %	0,0071	6 %	0,0090	6,4 %	0,0096
1,6 %	0,0066	4,5 %	0,0081	4,8 %	0,0082
16,2 %	0,0196	3 %	0,0073	3,2 %	0,0074
8,1 %	0,0117	1,5 %	0,0067	1,6 %	0,0066
4 %	0,0079	18,2 %	0,0240		
		9,1 %	0,0113		
		4,5 %	0,0084		

b) *Hémoglobine de chien*

8,2 %	0,0099	7 %	0,0089	9,2 %	0,0097
4,1 %	0,0078	3,5 %	0,0071	4,6 %	0,0080
2 %	0,0071	1,2 %	0,0058	2,3 %	0,0071

c) *Plasma sanguin de chien*

0,0117	0,0107	0,0101	0,0113	0,0103
Moyenne : 0,0109				

CONCLUSIONS

Les valeurs observées pour les solutions d'hémoglobine de chien et de cheval sont du même ordre de grandeur.

D'après les résultats sus-mentionnés, on constate que les concentrations des solutions d'oxyhémoglobine se rappro-

chant le plus de celles du plasma sanguin sont comprises entre des concentrations de 8 à 11 p. 100.

Donc les solutions titrant 14 p. 100 ont une viscosité nettement supérieure, celle titrant 3,5, une viscosité nettement inférieure.

La concentration moyenne se rapprochant le plus de celle du plasma est de 9,5 p. 100.

CHAPITRE VI

Recherches sur les pressions osmotiques colloïdales du plasma sanguin de chien et de solutions aqueuses d'oxyhémoglobine de cheval et de chien à différents titres.

Sur les indications de M. le Professeur Wangermez nous nous sommes reportés pour la détermination de la pression osmotique colloïdale au travail de Paul Meyer. Malheureusement les indications fournies par cet auteur sont parfois fort schématiques et même rudimentaires. Aussi n'est-ce qu'après de longs tâtonnements et des essais infructueux que nous sommes arrivés à mettre au point une technique. Toute la valeur de cette méthode peut dépendre en effet de menus détails, de tours de main qui doivent être l'objet d'attentions tout à fait spéciales. Nous indiquerons au fur et à mesure les précautions essentielles qui doivent être prises et que notre expérience personnelle juge rigoureusement nécessaires pour la bonne marche de l'expérience.

TECHNIQUE

La technique à laquelle nous nous sommes arrêtés comprend plusieurs temps que nous examinerons successivement.

1° Préparation des cellules

a) *Préparation des moules.* — Nous avons utilisé des tubes à essai tout d'abord de 6 millimètres de diamètre dans nos premiers essais, puis pour des raisons que nous

expliquerons plus loin, de 12 millimètres de diamètre ensuite.

Ces tubes sont percés d'un très faible orifice à leur partie la plus inférieure. On les trempe profondément dans une solution de gélatine à 8 p. 100 maintenue à une température de 30° à 40° afin d'éviter une trop forte viscosité. Nous avons remarqué que cette solution, pour obtenir de bons résultats, doit être rigoureusement limpide, ce qui nécessite une filtration à chaud; elle doit être en outre absolument dépourvue de toutes bulles gazeuses à sa surface. Nous conseillons ensuite d'opérer de la façon suivante pour obtenir de bons moules gélatinés.

On retire les tubes lentement, on laisse égoutter la solution de gélatine qui a pénétré dans l'intérieur du tube et on roule rapidement ce tube entre les doigts, la partie inférieure légèrement inclinée vers le bas. La gélatine se solidifie et obture le trou inférieur; on dispose alors le tube, l'orifice en bas, sur un support convenable.

Les moules sont laissés à la glacière pendant une demi-heure, puis on recommence la même opération; mais cela plus rapidement, de telle sorte que la couche de gélatine soit plus épaisse que celle obtenue dans le premier temps. Les moules gélatinés sont alors terminés. On les laisse à la glacière jusqu'au lendemain.

Nous conseillons l'addition à la solution de gélatine de quelques gouttes de solution de bleu de méthylène, ce qui permet de se rendre compte de l'homogénéité de la couche de gélatine. Nous verrons ultérieurement que cette addition présente aussi un autre intérêt.

Tout moule contenant des bulles gazeuses incluses dans la gélatine doit être rejeté.

b) *Préparation du collodion.* — Le collodion peut être obtenu en faisant dissoudre 8 grammes de fulmicoton dans 100 cc. d'un mélange à parties égales d'alcool à 95° et d'éther sulfurique (formule de Werner); mais il nous a

semblé qu'une concentration à 6 % est préférable, celle à 8 % donnant un collodion trop visqueux et des sacs trop épais. C'est avec ce taux de 6 % que nous avons opéré en dernier lieu.

Ce collodion doit être préparé au moins la veille de manière à ce qu'il soit bien dissous. On fait dissoudre le fulmicoton dans un flacon aussi hermétiquement clos que possible et placé à l'étuve à 37°, durant quelques heures. La dissolution est en effet très lente surtout dans les derniers temps. L'évaporation d'éther à l'étuve à 37° est insignifiante par suite de la formation à l'intérieur du flacon d'une pellicule de collodion desséché qui assure notamment l'étanchéité du bouchon.

Nous recommandons tout particulièrement de centrifuger le collodion longuement, avant l'usage, dans un tube fermé. On élimine ainsi les substances étrangères insolubles et également les bulles gazeuses provenant de l'agitation. On décante ensuite avec soin dans un récipient profond à large goulot.

c) *Obtention du moule collodioné.* — Les moules sortis de la glacière sont mis à tremper entièrement dans de l'alcool à 95°. Au moment de l'emploi, on les sort de l'alcool, on les laisse sécher, puis on les plonge dans le collodion, verticalement, doucement afin d'éviter la formation de bulles, et de telle sorte que le dépôt de collodion ne dépasse pas le dépôt de gélatine. On remonte alors très progressivement et avec lenteur le tube de telle manière que son extrémité inférieure affleure juste la surface du milieu sous-jacent, afin que les gouttes tombant du sac n'entraînent pas la formation de bulles dans la masse du collodion.

On attend ainsi quelques secondes; puis le tube étant mis en position presque horizontale, la partie inférieure légèrement inclinée vers le bas, on le roule lentement entre les doigts pendant 30 secondes exactement. Le collodion adhérent mal à la gélatine, la première immersion n'entraîne la

formation que d'une pellicule très mince, pour la dessiccation de laquelle le temps précédent est juste nécessaire.

On plonge alors à nouveau le moule dans le collodion, puis on le retire et on le tourne comme il a été dit plus haut, mais cette fois pendant six minutes exactement, car la couche de collodion formée est beaucoup plus épaisse qu'après la première immersion. On plonge enfin le moule dans l'eau pendant quinze minutes environ.

NOTA. — 1° La vitesse avec laquelle il faut sortir le moule du collodion a une importance capitale sur l'épaisseur ultérieure du sac, donc sur sa perméabilité. Plus cette vitesse est faible, plus le sac est mince.

2° De la régularité du mouvement de rotation, surtout durant les premières secondes dépend l'homogénéité du filtre. S'il est mal « tourné », il présente des zones minces et des zones épaisses.

3° Meyer indique le temps de trois minutes et demie, pendant lequel on doit tourner le moule après la deuxième immersion. Ce temps nous a paru insuffisant pour les filtres effectués avec des moules de 12 millimètres. Dans ces conditions en effet de tels sacs plongés dans l'eau deviennent opalescents. Ce phénomène est lié à notre avis à un manque de dessiccation en profondeur de la dernière couche de collodion. Le processus de ce phénomène semble être le suivant : entre la première couche de collodion adhérente à la gélatine et qui se dessèche rapidement comme nous l'avons vu plus haut et la pellicule superficielle de collodion de deuxième coulée, qui s'est desséchée au contact de l'air, se trouve, dans le cas de dessiccation insuffisante, une lame de collodion visqueuse intermédiaire, encore en solution dans de l'alcool et de l'éther : si on plonge un tel sac dans l'eau, par suite de diffusion, cette eau traverse la pellicule superficielle de collodion desséchée et vient précipiter le fulmicoton qui est encore en phase alcoolique. Il est donc nécessaire de prolonger ce temps de dessiccation à l'air et

de le porter à six minutes au lieu de trois minutes et demie.

4° On plonge le moule collodioné dans l'eau durant quinze minutes afin d'éliminer l'acool qui a pu rester.

d) *Démoulage*. — Le démoulage est très aisé. On plonge le moule collodioné dans de l'eau à 52°; on remplit son intérieur également avec cette eau; la gélatine, qui sépare le sac de collodion du verre, fond, et il suffit alors de souffler par l'ouverture du tube, très lentement : le sac de collodion glisse et tombe.

e) *Elimination de la gélatine*. — Une partie de la gélatine reste cependant collée contre le filtre et il faut l'éliminer. Il est impossible de le faire par simples lavages dans l'eau froide. Une méthode très pratique consiste à remplir les moules d'eau tiède presque complètement, puis à les retourner très rapidement, l'ouverture en bas, dans un grand récipient haut de bord. Il reste toujours dans le sac une bulle d'air très petite qui assure son flottement convenable. Le tout est mis à l'étuve à 37°. *Per dessensum* la gélatine est rapidement éliminée. On change l'eau trois ou quatre fois. On obtient ainsi des sacs apparemment satisfaisants, mais qu'il faut pourtant soumettre avant l'usage aux essais suivants.

2° *Essai des cellules*

Avant de pratiquer les essais, on se rend d'abord compte organoleptiquement si le sac est homogène, sans bulles et d'épaisseur constante. Pour cela il y a avantage à ajouter à la gélatine quelques gouttes de solution de bleu de méthylène ainsi que nous l'avons indiqué plus haut. Dans notre idée primitive, l'addition de colorant à la gélatine avait uniquement pour but de permettre d'être sûr que toute cette substance est éliminée après lavage; mais nous avons bientôt constaté que le bleu de méthylène est entièrement

absorbé d'une façon définitive par le collodion et, grâce à la coloration des sacs, on se rend compte plus aisément de leur homogénéité macroscopique. Ceci cependant ne suffit pas et il faut pratiquer les deux essais suivants :

a) *Essai de perméabilité aux protéines.* — Les cellules de collodion sont montées sur un support convenable que nous décrirons plus loin. Ils sont remplis d'une solution albumineuse (une solution d'hémoglobine convient parfaitement du fait de sa coloration rouge), puis plongés dans environ 20 cc. d'eau distillée, contenue dans un gros tube à essai. Le tout est abandonné vingt-quatre heures dans la pièce la plus fraîche. Au bout de ce temps, on recherche dans l'eau, avec le réactif de Tanret, la présence des albumines. Si l'eau est colorée en rose ou si la réaction au Tanret est positive, le filtre est à rejeter.

b) *Degré de perméabilité de l'eau.* — Les auteurs déjà cités ont montré que pour qu'un filtre soit utilisable il faut que, sous une pression de une atmosphère, 100 cc. d'eau distillée puissent traverser 100 cm² de filtre en un espace de temps compris entre quatre-vingts et deux cents minutes. Ils appellent indice de perméabilité du filtre le nombre de minutes ainsi exprimées.

La technique de la mesure de cet indice est la suivante :

Le sac de collodion est solidement fixé sur un bouchon de caoutchouc percé d'un trou dans lequel est insérée l'olive terminale d'un tube de verre. Ce tube traverse ensuite le bouchon d'un Kitasato et le sac est, par l'intermédiaire de ce dernier bouchon, suspendu dans l'intérieur de ce récipient. A l'extrémité supérieure du tube de verre, qui se termine peu au-dessus du Kitasato, on adapte alors par le truchement d'un tube de caoutchouc à vide une simple burette de Mohr (fig. 5). Filtre et burette étant remplis d'eau distillée, on attelle le Kitasato sur une trompe à vide électrique, réalisant ainsi une différence de pression

de une atmosphère. Au bout de cinq minutes, on note sur la burette la graduation de départ et on laisse le tout fonctionner trente minutes sous le vide. On note alors la graduation sur la burette. Soit n cc. le volume qui a traversé la paroi de la cellule de collodion. On détermine les dimen-

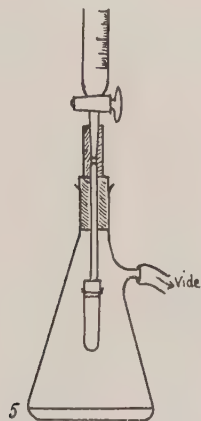


FIG. 5. — Schéma du montage des sacs de collodion pour la mesure de l'indice de perméabilité à l'eau.

sions de la partie filtrante du filtre et on calcule très aisément sa surface S (un cylindre plus une demi-calotte sphérique).

NOTA. — Nous recommandons de mettre dans le fond du Kitasato un certain volume d'eau. Sans cette précaution, le sac de collodion se recouvre d'une couche de glace qui entrave la filtration.

En fonction de ces trois données : temps de filtration, surface filtrante, volume filtré, il est aisé de calculer l'indice. Voici à titre d'exemple les indices de cinq filtres répondant à tous les essais précédents et qui ont été retenus après une série comportant vingt-sept sacs.

Filtre	Surface	Indice	Temps de filtration
1	7,0 cm ²	105	30 minutes
2	8,2 cm ²	120	30 minutes
3	6,3 cm ²	113	30 minutes
4	7,6 cm ²	191	30 minutes
5	9,3 cm ²	135	30 minutes

Les filtres reconnus utilisables sont immergés dans du sérum physiologique stérile en présence de thymol. Ils peuvent ainsi se conserver trois mois environ. Ils ne doivent jamais sécher.

3° Montage des sacs

La question du montage des filtres en vue de mesures ultérieures est excessivement délicate. Après de nombreux essais infructueux, nous avons opéré personnellement de la façon suivante :

On ligature avec du fil de lin le sac de collodion sur un bouchon de caoutchouc percé de deux trous, et cela aussi près que possible de la partie inférieure de ce bouchon. La cellule étant remplie du liquide à étudier au moyen d'une pipette Pasteur, en ayant soin de ne point laisser de bulles d'air, on introduit par un des trous du bouchon, et aussi profondément que possible, un tube de verre épais à tige capillaire, d'un mètre de longueur et d'un diamètre extérieur en rapport avec l'orifice du bouchon. Le liquide de trop plein s'écoule par l'autre trou. On introduit alors dans le deuxième orifice un tube de verre plein afin d'assurer l'étanchéité de la cellule. Le liquide, sous l'influence de cette pression, tend à monter dans le tube manométrique passant par l'autre orifice. Afin d'éviter cette ascension de la colonne liquidienne, on relève le tube manométrique en même temps qu'on enfonce le tube de verre plein. Le volume intérieur de la cellule reste ainsi invariable (fig. 6). On s'arrange pour que le niveau du liquide contenu dans le tube capillaire affleure la surface du bou-

chon. On lave rapidement et abondamment la partie extérieure de la cellule. Elle est prête pour la mesure.

4° *Mesure de la pression osmotique colloïdale*

Après de nombreux tâtonnements, nous avons opéré finalement de la façon suivante :

La cellule ainsi montée est immergée dans 10 cc. d'eau

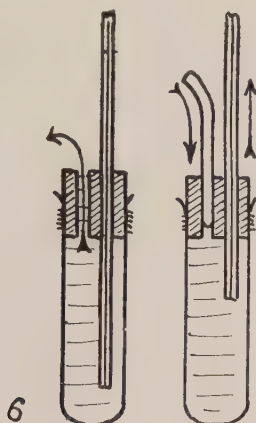


FIG. 6. — Schéma du montage des sacs de collodion en vue d'une détermination de pression osmotique colloïdale.

distillée contenue dans un gros tube à essai en verre jusqu'à affleurement de l'eau au niveau de la ligature, et maintenu dans cette position par un dispositif convenable. Le tout est abandonné dans une pièce fraîche à température constante. L'expérience nous a montré que l'équilibre est atteint au bout de dix-huit à vingt-quatre heures.

On effectue alors la mesure de la dénivellation entre le niveau de la ligature et le niveau d'arrêt de la colonne liquidienne dans le tube manométrique. On retranche de cette valeur la hauteur d'ascension capillaire spontanée, mesurée avant avec le même liquide. C'est cette valeur définitive que nous donnons dans nos tableaux.

En réalité, la mesure devrait théoriquement s'effectuer d'une façon différente. En opérant comme il est dit ci-dessus, du fait de la diffusion, on dilue en effet légèrement les solutions avec l'eau distillée qui a passé à travers le filtre et en modifie par conséquent un peu leur puissance d'absorption. On peut remédier en partie à cet inconvénient en utilisant des cellules de collodion à gros volume. C'est ce que nous avons fait finalement en employant des sacs de 12 à 15 cc. et c'est la raison pour laquelle, après avoir utilisé des moules de 6 mm. de diamètre qui ne donnent que des cellules de 2 cc., nous avons employé ultérieurement des moules de 12 mm. Dans de telles conditions, l'ascension correspond à une dilution de $1/30^e$, le volume mesuré du tube capillaire étant d'environ 0,5 cc. par 0 m. 75. Plusieurs mesures effectuées sur une même solution, et toutes choses étant égales par ailleurs, ne nous ont donné des différences d'un échantillon à l'autre que de l'ordre de quelques millimètres.

Nous avons malgré cela cherché dans certains cas à éviter la dilution, en opérant en volume constant. On procède à cet effet de la façon suivante :

La cellule étant montée comme nous l'avons indiqué, le tube capillaire est fermé par un robinet en relation avec un manomètre à eau. Après vingt-quatre heures, on effectue la lecture. Pour cela on ouvre le robinet, on attend quelques instants que l'équilibre s'établisse, puis on lit d'une part la dénivellation manométrique, d'autre part l'ascension dans le tube capillaire, on additionne ces deux valeurs et on effectue la correction de capillarité. Cette méthode est un peu plus compliquée et les différences constatées étant assez faibles, nous avons préféré opérer selon la première technique mentionnée, beaucoup plus simple.

NOTA. — Nous n'avons pu effectuer les mesures à 37^o , car on ne peut opérer en milieu stérile et l'altération de nos solutions à cette température, durant le temps nécessaire

à cette détermination, eût été trop importante. Les mesures ont été faites à une température voisine de 15°.

Toutes corrections effectuées, voici quelques résultats trouvés.

II. — RÉSULTATS

1° Solutions d'hémoglobine

Les chiffres obtenus, tant pour les solutions d'hémoglobine de cheval que pour celles d'hémoglobine de chien, sont consignés dans le tableau ci-dessous (tableau VI) et illustrés par les courbes de la figure 7.

TABLEAU VI

TABLEAU DES PRESSIONS OSMOTIQUES COLLOÏDALES DANS DES SOLUTIONS AQUEUSES D'OXYHÉMOGLOBINE DE CHEVAL OU DE CHIEN A DIFFÉRENTS TITRES.

HÉMOGLOBINE DE CHEVAL				HÉMOGLOBINE DE CHIEN			
Titre	Pression	Titre	Pression	Titre	Pression	Titre	Pression
18,2 %	109	16 %	112	15 %	90,2	8,2 %	52
9,1 %	50,6	14,4 %	93,2	13,5 %	78,4	4,1 %	30,4
4,5 %	22,1	12,8 %	73	12 %	72		
		11,2 %	65,6	10,5 %	60,4	7 %	46,4
16,2 %	95,2	9,6 %	53	9 %	53,1	3,5 %	25,1
8,1 %	46,1	8 %	45	7,5 %	44,8		
4 %	29	6,4 %	38,1	6 %	37,3	9,2 %	56,4
		4 %	25,8	4,5 %	30,9	4,6 %	32,7

2° Plasma sanguin du chien

Voici les résultats obtenus avec le plasma sanguin de chien. Chaque chiffre représente la moyenne de deux dosages. Nous avons opéré sur du plasma de sept chiens.

33,6 29,1 32 31 29,2 28,8 32,6
Moyenne : 30,9

CONCLUSIONS

Nous voyons que les valeurs trouvées pour les solutions d'hémoglobine de chien sont légèrement supérieures à

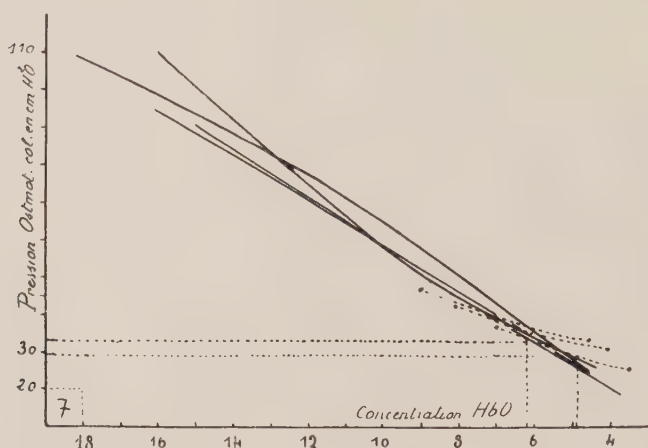


FIG. 7. — Graphique montrant la variation de la pression osmotique colloïdale de solutions aqueuses d'oxyhémoglobine en fonction de la concentration.

(En traits pleins : hémoglobine de cheval. — En pointillés : hémoglobine de chien.)

celles de l'hémoglobine de cheval pour une même concentration. Les valeurs se rapprochant le plus de celles du plasma sanguin de chien correspondent aux concentrations voisines de 6 p. 100.

CHAPITRE VII

Le pH et les solutions d'hémoglobine

Le pH des solutions d'oxyhémoglobine est un facteur assez difficile à étudier. Il ne peut être question de mesures colorimétriques. Seule la méthode électrique peut donner des résultats. Mais dans une détermination directe avec nos solutions, on aurait pu craindre leur altération. Cette mesure n'étant point ici d'un intérêt capital, nous n'avons fait que vérifier si ces solutions étaient à un pH voisin de 7. Nous avons tourné la difficulté de la façon suivante :

Lors des mesures de la pression osmotique colloïdale, alors que l'équilibre de Donan est établi, on peut admettre, sans crainte de faire une grosse erreur, que le pH du milieu dans lequel on trempe la cellule de collodion est identique au pH de la solution contenue dans la cellule. Dans l'espèce, la quantité d'oxyhémoglobine présente assurait au système une action tampon considérable.

C'est donc sur le dialysat qu'ont porté les analyses obligamment effectuées par M. le Professeur Machebœuf.

Les résultats obtenus pour les trois solutions étudiées sont indiqués ci-après.

NOTA. — Le liquide contenant du gaz carbonique, les chiffres indiqués correspondent au pH du milieu après le départ de cet élément chassé par l'hydrogène.

Solution Hb O à 14 p. 100	pH 7,92
Solution Hb O à 6,5 p. 100	pH 7,75
Solution Hb O à 3,5 p. 100	pH 7,38

Le pH du plasma sanguin de chien étant voisin de 7,38, nous voyons que le pH de nos solutions ne s'écarte que de très peu de celui du plasma sanguin de chien.

CHAPITRE VIII

Ajustement des solutions d'hémoglobine aux constantes minérales du plasma sanguin de chien.

La connaissance des constantes physico-chimiques ne suffit pas pour permettre d'établir un parallèle entre une solution d'hémoglobine et le plasma sanguin.

Les ions minéraux ont également leur intérêt; et nous nous sommes efforcés de donner à nos préparations une composition chimique aussi semblable que possible à celle du plasma de chien.

Sur trois échantillons de solutions mères d'hémoglobine de cheval dans l'eau distillée, nous avons procédé à des déterminations quantitatives portant sur les éléments minéraux les plus importants. Les mêmes dosages furent effectués sur le plasma du sang de quatre chiens.

Les taux de phosphore ont été exprimés en $P^{2-} O^{5-}$ ionisé et obtenus par coeruléomolybdimétrie (Denigès, Chelle, Labat).

Les dosages de Na ont été effectués par précipitation avec le réactif de Blanchetière (Denigès, Chelle, Labat).

Les dosages de K ont été effectués par précipitation au cobaltinitrite de sodium.

Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux ci-joints.

TABEAU VII

TENEUR EN IONS MINÉRAUX DE SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL

	A	B	C
Titre	16,2 %	18,4 %	16,5 %
Chlore en Cl p. 1.000 ..	2,24	1,39	2,20
P en P ² O ⁵ p. 1.000 ..	0,150	0,160	0,135
Ca p .1.000	0,075	0,070	0,081
Na p. 1.000	2,07	1,516	1,96
K p. 1.000	2,64	2,02	2,18

TABEAU VIII

TENEUR EN IONS MINÉRAUX DU PLASMA SANGUIN DE CHIEN

	A	B	C	D
Chlore en Cl p. 1.000 ..	3,32	3,25	3,38	3,51
P en P ² O ⁵ p. 1.000 ..	0,112	0,100	0,113	0,122
Ca p .1.000	0,125	0,115	0,112	0,105
Na p. 1.000	2,975	3,135	3,240	2,842
K p. 1.000	0,354	0,300	0,325	0,298

CONCLUSIONS

Dans les solutions d'hémoglobine, telles que nous les avons préparées, les quantités de Cl et Na ont varié dans d'assez grandes limites, ce qui s'explique du fait du lavage des globules rouges avec du sérum physiologique.

Les autres éléments minéraux étudiés, le P, le Ca et le K se sont montrés par contre assez stables.

On voit d'après les résultats précédents que même les solutions les plus riches en hémoglobine que nous ayons pu utiliser sont toujours beaucoup plus pauvres en P, en Ca, en Cl et en Na, et beaucoup plus riches en K que le plasma.

En ce qui concerne le Cl et le Na, l'obligation de rendre nos solutions isotoniques nous a amenés déjà à ajouter du chlorure de sodium. Nous avons dû de même additionner nos préparations de quantités convenables de P et de Ca. Quant au K, il est toujours en excès dans nos solutions

d'hémoglobine, la concentration la plus basse que nous ayons employée étant de 3,5 p. 100 d'hémoglobine, ce qui correspond encore à un taux de K, de 0 gr. 43 p. 1.000, si l'on prend comme teneur moyenne des solutions d'hémoglobine à 18 p. 100 le chiffre de 2 gr. 20. Or, le taux de K dans le plasma est en moyenne de 0 gr. 31 p. 1.000.

CHAPITRE IX

Du choix de la composition optima des trois solutions d'oxyhémoglobine utilisées dans notre expérimentation.

Il ressort des conclusions des chapitres précédents que les solutions d'oxyhémoglobine dans l'eau distillée quel que soit leur titre, ont des propriétés physicochimiques et une constitution minérale plus ou moins différentes de celles du plasma sanguin du chien.

Nous avons donc cherché à ajuster ces solutions de telle sorte qu'elles se rapprochent autant que faire se peut du plasma de cet animal, à ces divers point de vue.

Ajouter des sels minéraux à une solution est chose relativement aisée. En enlever est déjà plus difficile. Ajuster une composition physico-chimique à une autre est encore beaucoup plus compliqué. Dans ces divers cas, le problème ne se pose pas sous le même angle. Les mesures physico-chimiques nous ont, en l'espèce, imposé une formule optima que nous nous sommes ensuite efforcé d'adapter à la formule minérale du plasma.

Afin de synthétiser les faits, nous avons effectué les graphiques ci-joints :

1° Constantes physico-chimiques

Le graphique 8 a été établi de la façon suivante :

En absisses sont consignées les concentrations en hémoglobine pour 100.

En ordonnées sont portées les différentes valeurs mesurées : Δt , viscosité, densité, P. O. C., tension superficielle.

Chaque ligne représente, pour chaque élément, la

moyenne des valeurs mesurées pour chaque concentration, autrement dit la variation moyenne de ce facteur en fonction de la concentration.

Sur chacune de ces courbes, un point entouré d'un cercle représente la valeur correspondante moyenne observée dans le plasma sanguin.

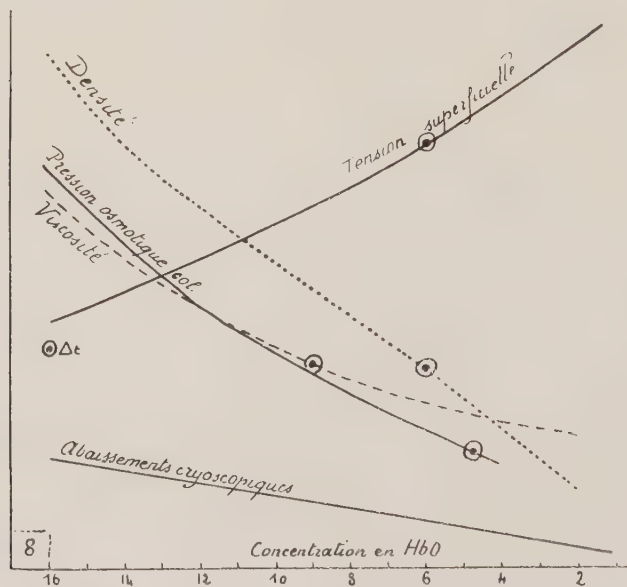


FIG. 8. — Tableau récapitulatif montrant la variation moyenne des différentes valeurs physico-chimiques des solutions aqueuses d'oxyhémoglobine en fonction de leur concentration et comparaison des valeurs correspondantes obtenues dans le plasma sanguin de chien (Un point entouré d'un cercle).

Si tous ces points encadrés étaient sur une même ligne verticale, la composition de la solution d'hémoglobine idéale, possédant les propriétés du plasma, serait par cela même définie, mais la figure nous montre qu'il n'en est point ainsi.

a) Quel que soit le titre en hémoglobine des solutions, leur abaissement cryoscopique est beaucoup trop faible, mais ceci peut être aisément corrigé par addition de sels minéraux.

b) Si la densité et la tension superficielle s'accordent pour une concentration de 6 p. 1.000, la pression osmotique colloïdale pour une telle concentration est un peu trop forte et surtout la viscosité trop faible.

Mais l'addition de Cl Na nécessaire à l'abaissement cryoscopique va diminuer la tension superficielle, augmenter la densité, augmenter aussi, mais dans de très faibles proportions, la viscosité.

D'autre part, les chiffres mentionnés ne sont pas des nombres absolus, mais des moyennes laissant à droite et à gauche une marge de sécurité. Ce ne sont pas des points, ce sont des plages qui permettent de choisir un compromis.

On voit en effet que sous réserve d'un ajustement de l'abaissement cryoscopique par addition d'une quantité convenable de chlorure de sodium, ce sont les solutions d'hémoglobine à 6,5 p. 100 qui présentent les constantes physico-chimiques les plus proches de celles du plasma sanguin.

Nos expériences auront notamment pour but de rechercher si cette concentration, qui nous paraît ainsi théoriquement la meilleure, est aussi la mieux supportée par l'organisme; et nous serons amenés par là même à utiliser des solutions de titre et de compositions différents pour nous permettre d'établir des comparaisons.

C'est ainsi que nous avons employé à côté de solutions à 6,5 p. 100 des solutions dont le titre était le double ou la moitié de celui-ci, soit environ 14 et 3,5 p. 100. Ces solutions extrêmes présentent une viscosité, une densité, une pression colloïdale osmotique et une tension superficielle très différentes de celles du plasma sanguin de chien; et nous n'avons rien fait pour en changer les valeurs. Toutefois nous avons modifié l'abaissement cryoscopique dans certains cas en l'amenant à celui du plasma sanguin de chien, par addition de sels minéraux, afin d'étudier les variations de toxicité de ces concentrations en fonction de leur tonicité.

2° Constantes chimiques

Nous nous sommes efforcés, dans un certain nombre de cas, d'amener la composition minérale de nos solutions d'hémoglobine à des valeurs semblables à celles de la composition du plasma sanguin.

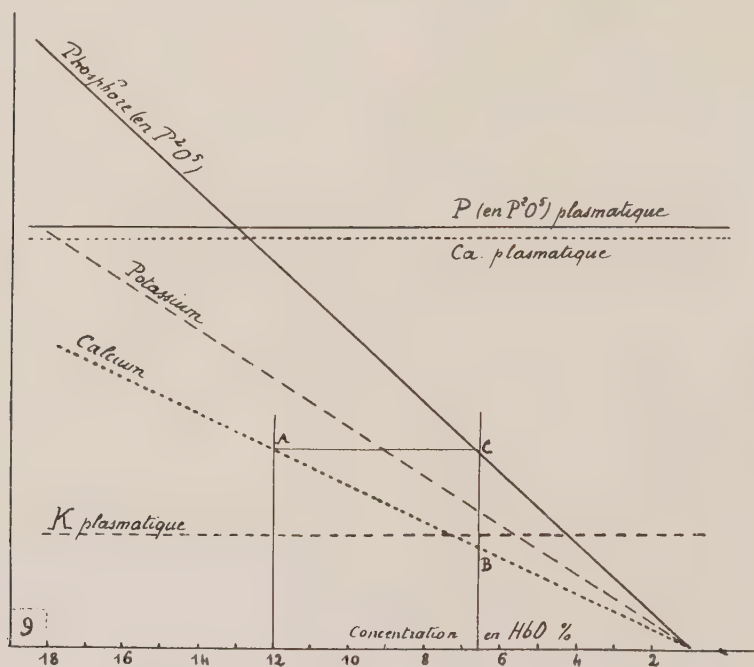


FIG. 9. — Graphique permettant l'ajustement des constantes minérales des solutions aqueuses d'hémoglobine, à différents titres, à celles du plasma sanguin de chien.

Nous nous sommes servis à cet effet des courbes de la figure 9. Ces courbes construites sur le type de celles des constantes physico-chimiques (fig. 8) montrent la variation de la concentration des différents facteurs minéraux en fonction de la dilution.

Si nous portons les valeurs correspondantes obtenues dans le plasma sanguin de chien en horizontale, au niveau de leurs valeurs respectives, nous voyons que le graphique 9

permet, dès l'instant qu'il est établi à échelle convenable sur papier millimétrique, de connaître instantanément les quantités de sels minéraux à ajouter aux solutions d'hémoglobine pour les ajuster à la teneur normale en ions minéraux de ce plasma.

D'après ce graphique, on constate les faits suivants :

a) L'addition de K n'est nécessaire que pour les concentrations inférieures à 3 p. 100. Les concentrations supérieures en ont toujours un excès. Personnellement nous n'avons pas utilisé dans nos expériences de solutions d'hémoglobine titrant moins de 3,5 p. 100; et par conséquent nous n'avons pas eu à ajouter de sels de K à nos solutions.

b) L'addition de Ca est toujours nécessaire quel que soit le titre de la solution. Nous avons ajouté du Cl^2 Ca.

c) L'addition de $\text{P}^2 \text{O}^5$ est nécessaire pour les concentrations inférieures à 12 p. 100. Nous avons ajouté du phosphate dissodique.

Dans la pratique, nous avons opéré de la façon suivante :

Supposons que nous voulions chercher la quantité de chlorure de Ca à ajouter à une solution d'hémoglobine à 6,5 obtenue par dilution convenable d'une solution à titre supérieur.

Menons au point figuratif représentant la concentration de 6,5 une verticale. Cette droite coupe la ligne de la calcémie moyenne des solutions d'hémoglobine (ligne en pointillés inclinée) et celle du plasma sanguin de chien (ligne en pointillés horizontale). La figure étant construite de telle sorte que 1 millimètre représente 1 milligramme, le nombre de millimètres séparant ces deux lignes représente la quantité de milligrammes de Ca à ajouter à 1 litre de solution d'hémoglobine.

On calcule ainsi chaque élément.

Ces données sont établies p. 1.000 cc. de solution.

On constate que les quantités de phosphates et de calcium

nécessaires sont excessivement faibles et de l'ordre de quelques centigrammes. Donc, en pratique, la quantité de chlorure de sodium qu'il faut employer pour rendre nos solutions isotoniques n'est pas de ce fait influencée.

Notons en outre qu'il y a intérêt à ajouter séparément chaque élément dissous dans un volume d'eau convenable afin d'éviter la précipitation de phosphate de calcium.

Toutes les solutions dont on se sert pour réaliser ces ajustements doivent être stérilisées.

On prépare une fois pour toutes des solutions titrées des différents éléments, telles que 1 centigramme corresponde à 1 centimètre cube, sauf pour le chlorure de sodium où le taux doit être plus élevé, par exemple 10 grammes pour 100 cc.

En résumé, on trouvera dans le tableau ci-joint (tableau VII) la composition finale des diverses solutions que nous avons employées dans la majeure partie des cas au cours de nos expériences. Les titres de ces solutions ont toujours été de 14, 6,5 à 7 ou 3,5 p. 100.

Comme on pourra s'en rendre compte en se reportant au Chapitre Premier de cette deuxième partie, la composition minérale des solutions d'hémoglobine de bœuf à 14 p. 100 qu'ont utilisées dans leurs recherches Amberson et ses collaborateurs était voisine de celle des solutions de même titre que nous avons préparées à partir du sang de cheval. Ces auteurs ne sont pas attachés à déterminer toutes les propriétés physico-chimiques de leur préparation, comme nous l'avons fait. Ils ont mesuré cependant sa pression colloïdale osmotique; mais les chiffres qu'ils indiquent (55 à 60 mm. Hg) diffèrent sensiblement de ceux que nous avons trouvés pour la concentration en hémoglobine de 14 p. 100 (85 à 88).

Pratiquement, pour réaliser nos solutions d'hémoglobine, nous avons opéré de la façon suivante :

La solution aqueuse d'hémoglobine ayant été préparée aussi concentrée que possible, et débarrassée de son éther, est titrée.

En fonction de ce titre et du degré de dilution désiré, on calcule la quantité de substances à ajouter, à savoir :

- 1° La quantité d'eau.
- 2° La quantité des différents sels minéraux.
- 3° La quantité de chlorure de sodium.

Les sels minéraux sont prélevés dans des solutions mères stérilisées et ajoutées à la solution d'hémoglobine.

On complète en ajoutant le volume nécessaire d'eau distillée. La solution d'hémoglobine est prête pour l'emploi.

Dans certains cas, comme nous le verrons, tout en utilisant toujours des solutions de 14, 6,5 ou 3,5 p. 100 d'hémoglobine, nous n'avons pas cherché à ajuster ces préparations au plasma sanguin avec autant de rigueur que l'exigent les données du tableau ci-dessous. Ceci nous a permis de juger de la nécessité de cet ajustement.

Nos solutions ont toujours été maintenues à 4° depuis la fin de leur fabrication jusqu'à leur emploi. Ce temps ne dépassa jamais, d'ailleurs, un à deux jours. Sappey dit avoir expérimenté dans des conditions satisfaisantes avec des solutions faites depuis plus de quinze jours. Personnellement nous ne nous sommes pas attachés à l'étude du problème de la conservation de ces préparations.

TABLEAU IX

COMPOSITION FINALE P. 1.000 ET VALEURS PHYSICO-CHIMIQUES
DE NOS SOLUTIONS D'OXYHÉMOGLOBINE A 3,5, 6,5 ET 14 P. 100

	14 p. 100	6,5 p. 100	3,5 p. 100
Δt	0,58	0,58	0,58
TS	63,5-65,5	68-70	70-72
Densité	0,015-0,018	0,0086-0,0094	0,0075-0,0079
Viscosité	1,046-1,049	1,026-1,027	1,015-1,018
P. O. C.	85-88	36-40	20-25
Calcium	0,109	0,109	0,109
P ² O ⁵	0,120	0,112	0,112
K	1,60	0,70	0,430
Na	3,30-3,40	3,60-3,65	3,55-3,60
Cl	4,35-4,65	5,14-5,30	5,40-5,50

CHAPITRE X

Conditions générales d'expérimentation

Nous avons poursuivi, avec les solutions d'hémoglobine préparées comme il a été dit ci-dessus, trois sortes de recherches que nous exposerons dans les trois parties suivantes de ce travail.

Nous nous sommes tout d'abord proposés d'étudier la toxicité propre de l'hémoglobine administrée par voie intraveineuse, à des taux de concentration différents.

Puis nous avons cherché à déterminer dans quelle mesure cette hémoglobine peut être utilisée par l'organisme et les influences qu'elle exerce sur la survie des animaux, ayant subi préalablement de fortes saignées, sur leur hématose et sur la régénération de leurs globules rouges.

Enfin nous nous sommes efforcés de préciser ce que devient l'hémoglobine injectée dans la circulation, dans quelle proportion elle est éliminée ou retenue et dans ce dernier cas, dans quels tissus elle se dépose.

Pour réaliser ces trois sortes de recherches, nous avons dû, dans chaque cas, utiliser des techniques spéciales que nous rapporterons au fur et à mesure que nous relaterons nos expériences.

Mais d'une manière générale, nous avons adopté une technique opératoire d'administration des solutions d'hémoglobine qui a été la même pour l'ensemble du travail, et que nous tenons à décrire tout d'abord.

Nous n'avons pas injecté d'hémoglobine dans la circulation de nos animaux sans avoir auparavant effectué un important prélèvement de sang. Il pourrait être intéressant d'étudier l'action des solutions d'hémoglobine administrées

sans saignée préalable, à doses fortes ou faibles, uniques ou répétées. Les modalités d'expérience peuvent varier à l'infini; mais nous devons nous limiter à des conditions précises, susceptibles de nous renseigner à la fois sur les trois ordres de faits que nous nous étions proposés d'étudier.

Or, pour pouvoir apprécier plus aisément l'effet physiologique de l'hémoglobine injectée dans la circulation, il était nécessaire de déterminer tout d'abord de l'anémie. Et, poussés sans doute un peu, comme Sappey, par l'espoir que des solutions d'hémoglobine pourraient éventuellement produire les mêmes bienfaits que les transfusions chez les sujets ayant subi de fortes déperditions de sang, nous avons tout naturellement réalisé des anémies par saignée, anémies qui sont d'ailleurs les plus simples et les plus rapides à constituer.

Nous ne pensons pas que ces saignées préalables aient pu modifier beaucoup la tolérance de l'organisme vis-à-vis de l'hémoglobine; et dans tous les cas, il est logique de penser que cette tolérance a dû être plutôt accrue de ce fait, attendu que la masse de liquide hémoglobiné n'a pas été administrée dans la circulation en surcharge, mais seulement en remplacement d'une partie des humeurs prélevées.

En définitive notre technique opératoire fut la suivante :

L'animal ayant été étudié au point de vue du fonctionnement du foie et des reins, comme il sera indiqué dans le chapitre suivant, et reconnu normal, était laissé à jeun depuis douze heures environ. On le fixait sur une gouttière de Farabeuf, ventre en l'air, et on dénudait une veine fémorale. Au début de nos recherches nous dénudions et ponctionnions de préférence la veine jugulaire, mais la plaie opératoire créée à ce niveau gênait, par la suite, le maintien de l'animal au collier, surtout si elle venait à suppurer, comme il arrivait assez souvent. Nous avons donc fait ultérieurement nos prélèvements dans une veine fémorale. Dans quelques cas où les veines saphènes étaient particulièrement volumineuses, nous avons pu réaliser à leur niveau

toute la saignée, puis l'injection d'hémoglobine, sans inciser. Mais en général, on ne peut mener l'opération jusqu'au bout, par ce moyen, étant donné surtout la baisse de la pression veineuse lorsqu'une masse de sang assez importante a déjà été enlevée.

Le prélèvement fut effectué tantôt par simple aspiration à l'aide d'une grosse seringue, tantôt, lorsqu'on voulait recueillir le sang en vue d'une transfusion ou de la préparation d'hémoglobine de chien, dans un ballon stérile, contenant du citrate de soude, par l'intermédiaire d'un tube de caoutchouc assez court, reliant l'aiguille intraveineuse au ballon. Celui-ci présentait une tubulure latérale par laquelle on pouvait réaliser une certaine aspiration afin de favoriser l'écoulement.

Nous rapporterons quelques expériences, dues surtout à Sappey, notre prédécesseur au laboratoire, dans lesquelles les animaux subirent une saignée de 50 cc. par kgr. de poids du corps. C'est une proportion qui, d'après les travaux de Zunz et Govaerts, entraîne fréquemment la mort chez le chien, si aucun remède n'est apporté à cette importante soustraction de masse sanguine. Sappey avait choisi ce taux, pour démontrer que les chiens ainsi saignés ne mourraient pas si on leur administrait rapidement une solution d'hémoglobine. Cette démonstration ayant été faite par notre devancier, nous n'avons pas jugé utile de la refaire. Et d'autant plus que de telles expériences exposent tout de même à perdre pas mal d'animaux, car la résistance des chiens à des saignées aussi massives est très variable d'un sujet à l'autre; et certains meurent avant que le pourcentage de déperdition sanguine indiqué plus haut ait pu être atteint ou bien avant qu'on ait eu le temps de faire toute injection palliative.

Personnellement, nous nous sommes contentés de prélever à nos chiens 40 à 30 cc. de sang par kilo de poids du corps selon les cas, la saignée étant réalisée en 40 à 60 minutes, en deux ou trois temps, séparés les uns des autres par

des périodes intermédiaires de 10 à 15 minutes. Lorsque 40 cc. de sang par kilogramme étaient enlevés, nous prenions soin, en fin de saignée, de mettre les animaux en position de Trendelembourg, et de les réchauffer avec des bouillottes.

La saignée étant terminée, nous injectons peu à près la solution d'hémoglobine dans la même veine. Cette solution était préalablement portée à 37° par immersion au sortir de la glacière dans un thermostat pendant un temps suffisant. Nous avons effectué nos injections à l'aide d'une aiguille adaptée à un tube de caoutchouc d'une longueur de 60 centimètres environ et fixé par son autre extrémité à l'embout d'une seringue de 100 cc. remplie avec le milieu hémoglobiné et non munie de son piston. Ce dispositif nous a permis de réaliser ainsi une pression d'environ 55 cc. d'eau. Le liquide s'écoule de cette façon très lentement. Pour les solutions très concentrées en hémoglobine, la viscosité du milieu étant très grande, nous devions créer une surpression dans la seringue à l'aide du piston. Avec les solutions à 3,5 au contraire il fallait réduire la dénivellation.

Quel que fut le titre de la solution, la durée de l'injection, variable évidemment avec le volume à injecter, fut en moyenne, pour un chien de 20 kilogrammes, d'une demi-heure.

D'une manière générale nous avons toujours administré une quantité de solution d'hémoglobine égale à la moitié de la masse de sang préalablement enlevée.

L'injection terminée, nous assurons une hémostase rigoureuse, désinfectons le foyer opératoire avec de la pommade iodoformée, puis posons les points de suture nécessaires, et l'animal était aussitôt remis sur le sol et, après un certain temps d'observation, reconduit dans sa cage.

TROISIÈME PARTIE

ETUDE TOXICOLOGIQUE DES SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE EN INJECTIONS INTRA- VEINEUSES CHEZ LE CHIEN EN ÉTAT D'ANÉMIE EXPÉRIMENTALE AIGUE PAR SAIGNÉE.

CHAPITRE PREMIER

Méthodes d'observations des animaux traités, après saignée, par des injections intravei- neuses d'hémoglobine.

L'examen clinique des animaux expérimentés, les réactions qu'ils ont présentées au cours de l'injection et après l'injection des solutions d'hémoglobine, leur allure générale, non seulement dans les heures, mais aussi dans les jours suivant l'expérience, ont été naturellement minutieusement notées. Et ceci nous a permis de nous rendre compte, ainsi d'ailleurs que l'avaient fait MM. Aubertin, Lacoste et Sappey, que le trouble le plus apparent que l'on observe après l'administration intraveineuse de solutions d'hémoglobine, du moins à certaines concentrations, porte sur le fonctionnement des reins.

Aussi, nous sommes-nous spécialement attachés à réaliser l'exploration fonctionnelle de cet organe avant et après l'ex-

périence. Nous y avons joint dans bien des cas l'exploration fonctionnelle du foie, bien que cliniquement aucun symptôme n'ait attiré notre attention de ce côté. Mais nous étions en droit de supposer que la fonction biliaire pouvait être perturbée par l'apport d'une masse d'hémoglobine dans la circulation; et nous tenions d'ailleurs à rechercher si cette substance n'est pas capable par elle-même d'entraîner une insuffisance hépatique latente.

Théoriquement il eût fallu procéder de même pour chacun des organes. Mais outre que beaucoup d'entre eux sont difficilement explorés, nous ne pouvions étendre nos investigations à toute la physiologie et rien, dans le comportement général de l'animal, ne nous a incités à porter nos investigations sur tel système plutôt que sur tel autre. Nous nous sommes donc contentés de faire des prélèvements systématiques de la plupart des organes pour vérifier leur état anatomique. Nous verrons d'ailleurs que cette méthode a abouti à mettre en évidence au niveau des poumons des lésions que la clinique n'avait pas permis de soupçonner.

A. — EXPLORATION FONCTIONNELLE DES REINS ET DU FOIE

Pour en revenir à l'exploration fonctionnelle du foie et des reins, nous avons dû, vu le grand nombre d'animaux sur lesquels nous avons expérimenté, nous contenter d'examens sommaires dans la plupart des cas, nous réservant de pousser plus à fond notre étude dans quelques cas seulement pour chaque groupe d'expériences.

Chez tous les chiens nous avons systématiquement recherché avant et de nombreuses fois après l'injection d'hémoglobine : dans le sang, le taux de l'urée; et dans les urines : les éléments anormaux : albumine, glucose, acétone, urobiline, sels et pigments biliaires, indol, indican et scatol, cylindres et éléments cellulaires.

Chez les chiens qui furent examinés plus à fond, nous avons étendu nos dosages et mis en œuvre plusieurs épreu-

ves fonctionnelles : la constante d'Ambard, l'épreuve de la phénol-sulfone-phtaléine, l'épreuve du rose bengale et celle de la galactosurie provoquée.

Nous nous sommes basés pour le choix de ces divers tests sur des recherches poursuivies au laboratoire, depuis plus de deux ans, par MM. Aubertin, Lacoste, Martinet et de Lachaud chez des chiens atteints d'hépatonéphrites, de néphrites ou d'hépatites expérimentales, recherches encore en partie inédites, mais qui vont faire incessamment l'objet des thèses de MM. Martinet et de Lachaud, et qui ont abouti à préciser les meilleurs critères de l'insuffisance rénale et de l'insuffisance hépatique chez le chien.

C'est ainsi que nous avons systématiquement dosé chez un certain nombre de nos animaux, dans l'urine, outre les éléments ci-dessus désignés, l'azote résiduel, l'azote au formol, la créatine et la créatinine, les chlorures, le coefficient de Maillard; dans le sang : l'azote résiduel, les polypeptides, l'ammoniaque, les albumines, la fibrine, l'acide urique, la créatine, la créatinine, le cholestérol et la lipémie, la bilirubine, les chlores.

Les auteurs précédents ont observé que dans l'insuffisance hépatique chez le chien, les signes les plus importants sont, dans les urines, l'urobilinurie, et dans le sang, l'élévation de l'azote résiduel, du taux des polypeptides, l'inversion du rapport S/G, l'abaissement du taux de la fibrine, l'augmentation de la lipémie et plus exceptionnellement de la bilirubinémie.

Dans l'insuffisance rénale, les tests les plus intéressants à relever sont, dans les urines : la présence d'albumine et de cylindres, l'augmentation de l'azote résiduel, de l'azote au formol, de la créatinine, la diminution des chlorures; et dans le sang : l'élévation de l'urée, de l'azote résiduel, de l'azote aminé, des polypeptides, de l'ammoniaque et de la créatinine, les variations du taux des chlores. Il est bien évident d'ailleurs que ces diverses valeurs sont plus ou moins changées selon le type d'insuffisance rénale auquel

on a affaire; mais nous ne saurions entrer dans ces considérations sans sortir de notre sujet et empiéter sur celui de nos camarades.

En dehors de ces divers dosages, nous avons en outre pratiqué, pour l'exploration des fonctions rénales : la recherche de la constante d'Ambard et l'épreuve de la phénol-sulfone-phtaléine, et pour celle des fonctions hépatiques : les épreuves du rose bengale et du galactose. Comme nous le verrons d'ailleurs, celle-ci comporte également une épreuve de diurèse qui vise aussi bien le fonctionnement du rein que celui du foie.

Nous ne saurions décrire en détail les techniques de ces diverses épreuves, adaptées au chien. On les trouvera dans les thèses de MM. de Lachaud et Martinet. Nous ne donnons ici que des indications succinctes sur la façon dont nous avons opéré.

Constante d'Ambard. — Cette détermination s'effectue de la façon suivante : le chien étant à jeun, on prélève par ponction veineuse un volume suffisant de sang pour le dosage de l'urée. Ceci étant fait, on introduit une sonde dans la vessie pour la vider. On injecte ensuite directement dans l'estomac, au moyen d'une sonde, 200 cc. d'eau; puis on met l'animal dans une cage aménagée pour recueillir l'urine. Au bout de soixante-dix minutes, on sonde à nouveau la vessie et on détermine la constante selon les données habituelles. La valeur normale de ce test chez le chien est égale ou inférieure à 0,10.

Epreuve de la phénol-sulfone-phtaléine (P. S. P.). — On opère de la façon suivante : le chien étant sondé comme ci-dessus, on garde l'urine. On injecte alors dans la veine saphène 2 cc. de la solution habituelle de phénol-sulfone-phtaléine. On fait ingérer à l'animal à l'aide d'une sonde gastrique, 200 cc. d'eau; puis il est mis dans une cage comme précédemment et sondé à nouveau au bout de soixante-dix minutes.

L'urine prélevée est traitée selon la méthode habituelle. Les valeurs normales sont supérieures à 60 p. 100.

Epreuve du rose bengale (R. B.) (technique de MM. Aubertin, Lacoste et de Lachaud). — On dispose quatre tubes à centrifuger gradués contenant chacun 1 cc. d'une solution d'oxalate de potassium à 2 p. 100. Dans le premier tube, on met 4 cc. de sang prélevé avant toute injection de colorant. Puis on injecte dans la veine le rose bengale à la dose de 1 milligr. 5 par kilogramme de poids du corps, en utilisant une solution contenant 2 grammes de rose pour 100 de sérum physiologique. Cinq, quinze et trente minutes après l'administration de R. B., on saigne l'animal et on met chaque fois 4 cc. de sang dans l'un des tubes à centrifuger ci-dessus préparés. On centrifuge les quatre tubes et on décante le sérum surnageant que l'on met dans quatre tubes identiques à ceux d'une gamme étalon avec lesquels on les compare au bloc Walpoole, selon la technique habituelle. Le sérum normal sert de teinte correctrice.

Les chiffres obtenus chez le chien sain sont égaux ou inférieurs aux valeurs suivantes :

Au bout de cinq minutes : 6 à 8 milligrammes;

Au bout de quinze minutes : 1 à 3 milligrammes;

Au bout de trente minutes : 0 milligramme.

En cas d'insuffisance hépatique, la rétention de R. B. dans les humeurs s'accroît et se prolonge.

Epreuve de la galactosurie provoquée. — Cette épreuve s'effectue de la même manière que chez l'homme. La vessie ayant été vidée par sondage, on introduit dans l'estomac par un tube de caoutchouc 100 cc. d'une solution contenant 15 gr. de galactose. Le chien est mis en cage. Il est sondé au bout de deux heures, quatre heures, dix heures et vingt-quatre heures, à partir du moment de l'ingestion.

Chaque émission urinaire étant mesurée, on y détermine la concentration en galactose par un dosage au Bonnans. Nous rappelons que le coefficient du galactose est de 0,45.

D'après de nombreuses expériences effectuées au laboratoire, il résulte qu'on ne peut considérer chez le chien cette épreuve comme pathologique que si la dernière émission contient encore du galactose.

Cette méthode ne semble donner des résultats que dans les affections très prononcées du foie.

Par contre, elle comporte une épreuve de diurèse intéressante. Normalement le chien élimine dans les conditions précédentes plus de 200 cc. dans les deux premières heures. Dans les altérations graves du foie avec répercussion sur le fonctionnement des reins et dans l'insuffisance rénale, cette quantité se trouve diminuée et la diurèse est retardée : il y a opsiurie.

B. — RECHERCHES HISTOLOGIQUES

Tous les examens ont porté sur des pièces fraîches prélevées sur des animaux sacrifiés par piqûre du bulbe. Lorsqu'un chien paraissait devoir mourir à brève échéance, on le sacrifiait de la même façon *in extremis*, afin d'avoir ses organes encore dans un bon état de conservation.

Nous nous sommes attachés dans chaque groupe de recherches à tuer des chiens au bout de temps variables après l'injection d'hémoglobine, de manière à avoir une vue d'ensemble sur l'évolution des lésions, autant que la chose pouvait se faire cependant, vu les différences individuelles de réactions des animaux soumis à des expériences pourtant identiques.

Après avoir noté l'aspect macroscopique des divers organes, nous avons prélevé dans tous les cas des fragments de foie, de rein, de rate, de poumon, de surrénale, d'intestin, de cerveau et de muscle. Nos examens ont jusqu'à l'heure porté principalement sur les reins, les poumons, le foie et la rate.

Dans chaque cas, on a prélevé plusieurs fragments des divers organes de façon à obtenir pour chacun d'eux des

pièces fixées au formol neutre à 8 p. 100, au liquide de Bouin et au liquide de Zenker. Pour la mise en œuvre des techniques mitochondriales, on a utilisé concurremment les liquides de Tupa et la méthode de fixation de Dietrich-Parat.

L'étude des graisses, qui n'a été entreprise qu'en vue de leur localisation et de leur étude quantitative, a été faite sur des pièces fixées au formol, coupées à la congélation et colorées par le Soudan III et le sulfate bleu de Nil.

Les essais d'identification du fer ont été effectués par la méthode de Mac Callum au ferrocyanure de potassium après démasquage à l'alcool sulfurique suivant la technique préconisée par A. Prenant.

Pour l'identification de l'hémoglobine, on a employé la méthode que J. Fautrez et P. Lambert ont récemment mise au point et qu'ils ont largement utilisée dans les beaux travaux réalisés par eux dans le laboratoire du Professeur Pol Gérard, de Bruxelles, sur l'histophysiologie du rein des Batraciens (Urodèles) (1).

En ce qui concerne l'étude histochimique des pigments, nous avons employé les procédés d'identification classiques; nous dirons seulement que pour ce qui est de la décoloration, nous avons eu recours à la méthode à l'acide chlorique de Grynfeldt et Mestrezat.

Les microphotographies illustrant les principaux faits décrits dans ce travail ont été réalisées dans le laboratoire du Professeur G. Dubreuil et sous sa direction.

(1) J. FAUTREZ et P. LAMBERT. — Une nouvelle méthode de coloration de l'hémoglobine. *Bulletin d'Histologie appliquée*, etc., janvier 1937, t. XIV, n° 1.

CHAPITRE II

Troubles toxiques graves dus à des solutions d'hémoglobine altérées

Nous avons constaté au cours de notre expérimentation combien les solutions d'oxyhémoglobine étaient altérables. Le sang et l'hémoglobine sont d'excellents milieux de culture pour une foule de microbes qui peuvent d'ailleurs être pathogènes ou non. L'action de ces microbes est rapide. On constate dans une solution souillée un changement net de la couleur qui, de rouge franc intense, devient de plus en plus noirâtre et brique pilée. Les substances libérées par cette attaque semblent avoir une action très toxique, portant surtout sur les organes de la digestion, comme nous allons le voir.

Comptant sur la stérilisation finale de nos préparations par les filtres Seitz stérilisants, nous avons pensé au début de nos recherches qu'il n'était pas utile de prélever aseptiquement le sang qui devait nous servir pour faire ces préparations et nous avons recueilli ce sang à l'abattoir dans des conditions aussi convenables que possible, mais qui étaient tout de même fort loin de réaliser une aseptic rigoureuse.

De plus, nous fiant toujours à la filtration terminale pour éliminer les microbes que nous pourrions introduire dans nos solutions, au cours des manipulations, nous effectuions celles-ci sans trop nous presser, au point de les faire durer parfois plus de vingt-quatre heures.

Nous n'avions pas pensé que c'était plus de temps qu'il ne fallait pour permettre aux germes d'attaquer l'hémoglobine et faire naître des substances toxiques solubles

qu'aucune filtration ne pouvait retenir. Et c'est ainsi que nous avons observé des accidents graves dont nous rapportons ici cinq observations, accidents que nous n'avons plus jamais vus par la suite, dès l'instant que nous avons observé la plus stricte asepsie pour nos prélèvements de sang chez le cheval vivant, à la jugulaire, ainsi que pour toutes les manipulations ultérieures, lesquelles furent toujours effectuées par la suite de telle sorte que nos préparations d'hémoglobine étaient terminées en moins de douze heures.

Afin de bien identifier les réactions observées avec les solutions d'hémoglobine pure, nous rapportons, avant toutes choses, les intoxications graves que nous avons constatées avec des solutions d'hémoglobine altérées, dans les conditions de fabrication défectueuses précédemment exposées.

OBSERVATION I

Chien 68. — Poids 10 kilogrammes. Toutes épreuves fonctionnelles ayant été effectuées et l'animal ayant été reconnu normal, on le saigna de 600 cc. (soit 40 cc. par kilogramme). On injecta 300 cc. d'une solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100, filtrée sur filtre Seitz stérilisant, mais qui avait été préparée en trente-six heures, avec du sang recueilli à l'abattoir. L'animal fut assez abattu après l'injection, mais il but et mangea un peu tout de même. Très rapidement, cependant il présenta de violentes coliques et, au prix d'efforts incessants, il émit bientôt des selles sanguinolentes. Celles-ci étaient d'abord formées de matières liquides chargées de sang; puis, ce ne furent plus que des glaires sanglantes, rejetées pour ainsi dire sans arrêt. Cet état persista deux heures, au bout desquelles l'animal mourut, épuisé.

OBSERVATION II

Chien 65. — Poids 10 kilogrammes. Toutes épreuves fonctionnelles ayant été réalisées, et le chien ayant été reconnu normal, on le saigna, un soir, en trois temps, d'un volume total

de 370 cc. (soit 37 cc. par kilogramme), en une heure trente. Après la saignée, l'animal était très prostré. On lui injecta alors 200 cc. d'une solution d'hémoglobine à 14 p. 100, préparée avec du sang prélevé à l'abattoir, puis filtrée sur filtre Seitz filtrant. L'état de l'animal s'améliora aussitôt. On remit le chien dans sa cage. Il parut tout d'abord assez peu choqué, mais refusa de manger. Le lendemain matin, on le retrouva mort. Dans le cristalliseur destiné à recueillir les urines se trouvait un liquide de vomissement noir. A l'autopsie, on constata un estomac très dilaté et plein d'un liquide sanglant noirâtre. Dans les anses intestinales se trouvaient également des déjections sanguinolentes. Dans la vessie on put prélever un peu d'urines qui ne contenaient pas d'hémoglobine. Les reins étaient noirs, ainsi que le sang qui s'écoulait des vaisseaux. Un dosage d'urée effectué sur ce sang cadavérique donna le chiffre de 0 gr. 98.

OBSERVATION III

Chien 67. — Poids 13 kg. 200. Toutes épreuves fonctionnelles étant faites, on pratiqua un matin une saignée, en trois temps, de 470 cc., en trente minutes. On injecta ensuite 220 cc. d'une solution d'hémoglobine à 7 p. 100, préparée en vingt-quatre heures, avec du sang prélevé à l'abattoir, puis filtrée sur filtre Seitz stérilisant. En fin d'expérience, à 11 heures, l'animal était très abattu. A midi, il parut très essoufflé et assez prostré. A 13 heures, il émit des selles liquides et noires et bientôt vomit aussi des glaires sanguinolentes. Il était abattu et très essoufflé. La diarrhée sanglante et les vomissements durèrent toute l'après-midi et l'animal mourut dans la soirée. A l'autopsie, on trouva des lésions analogues à celles du chien précédent : estomac dilaté rempli de liquide noirâtre; anses intestinales présentant des vaisseaux dilatés et contenant dans leur lumière des glaires sanguinolentes; reins et poumons très congestionnés.

OBSERVATION IV

Chien 69. — Poids 19 kilogrammes. Toutes épreuves étant faites, on saigna le chien, un matin, de 570 cc., soit 35 cc. par

kilogramme et on lui injecta 300 cc. d'une solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100, préparée dans les mêmes conditions que précédemment. L'animal parut assez choqué et déféqua durant l'injection. En fin d'opération, il était très abattu. Il va-et-vient cependant dans la pièce et but un peu; mais très rapidement il émit, avec des contractions intestinales violentes, des selles sanguinolentes. Toute l'après-midi, les hémorragies intestinales continuèrent avec épreintes et émission de glaires rougeâtres. Des vomissements non sanglants se produisirent également. Le soir l'animal était froid et mourant. On lui injecta dans les veines du sérum salé hypertonique, mais il continua à émettre des selles sanglantes avec profusion. A 21 heures, on recommence les injections de sérum salé sous la peau. On administra de la morphine, du coagulène, de l'ergotine. Le chien fut laissé comateux. Le lendemain, on le trouva mort. A l'autopsie, les anses intestinales se montrèrent très congestionnées, présentant dans leur lumière des mucosités sanguinolentes.

OBSERVATION V

Chien 70. — Poids 15 kilogrammes. On le saigna de 400 cc., soit 30 cc. par kilogramme et on lui injecta ensuite en vingt minutes, 250 cc. d'une solution d'hémoglobine à 14 p. 100 préparée comme précédemment.

L'animal, au cours de l'injection, manifesta une polypnée intense. Après l'injection, mis à terre, il parut très agité mais nullement choqué; et il mangea la moitié de sa soupe. Dans l'après-midi, il vomit et présenta de la diarrhée sanglante. Il n'urina pas. Durant la nuit, nouveaux vomissements mais pas d'émission d'urines. Le lendemain, au sortir de sa cage, le chien émit 250 cc. d'une urine fortement chargée en hémoglobine.

L'animal fut sacrifié à ce moment. Les reins étaient volumineux, violacés. Ni l'estomac, ni l'intestin ne contenaient de liquide sanguinolent; les poumons semblaient normaux; le foie était un peu décoloré.

L'urine prélevée dans la vessie contenait des hématies, des cylindres hyalins et épithéliaux, de nombreuses cellules et de nombreux leucocytes.

CONCLUSIONS

On voit d'après les cinq observations précédentes que les accidents toxiques produits par les solutions d'oxyhémoglobine altérées sont tous du même ordre. Ils consistent essentiellement en un syndrome hémorragique à localisation gastro-intestinale.

Au cours même de la transfusion l'animal peut paraître déjà choqué. Il arrive qu'il vide alors spontanément sa vessie et son intestin. Très rapidement après la transfusion, paraissent en tous cas de violentes contractions intestinales avec selles sanglantes souvent profuses. Des vomissements hémorragiques peuvent également se produire, mais surviennent généralement plus tardivement, et nous avons vu dans deux cas une dilatation aiguë de l'estomac avec *vomito negro*, rappelant certains accidents hypertoxiques postopératoires observés en clinique humaine. Notons d'ailleurs que chez trois de ces chiens (67, 69, 70), nous avons étudié à plusieurs reprises après l'injection d'hémoglobine les taux de chlore globulaire et de chlore plasmatique et que nous n'avons pas observé de modifications s'effectuant constamment dans le même sens, ainsi qu'on peut le voir d'après les chiffres ci-dessous.

Des injections de sérum salé hypertonique n'ont au surplus provoqué aucune amélioration dans l'état de ces animaux. Il s'agit de toute évidence d'une intoxication produite par une substance entérotripe à action péristaltique et hémorragiante, et qui est dérivée de l'hémoglobine.

Sauf dans un cas (observation 5) où les accidents furent légers et où il semble que l'animal eût survécu, tous les autres sont morts dans des délais variant de deux heures à seize heures.

Comme nous l'avons relaté plus haut, on ne peut qu'être frappé de la ressemblance des troubles de dilatation aiguë de l'estomac avec *vomito negro* que nous avons vus survenir chez deux chiens avec ceux que l'on observe parfois après

TABLEAU X

TABLEAU DES CHLORES SANGUINS APRÈS INJECTION
D'HÉMOGLOBINE ALTÉRÉE

	CL. Glob.	CL. Plasm.	CL. Total	RAP. CL. G. CL. P.
<i>Chien 67</i>				
Normal	1,66	3,63	2,78	0,54
Après saignée	2,25	3,63	2,96	0,62
Après injection	2,03	3,63	2,96	0,56
Une heure après	2,68	3,28	2,96	0,81
Trois heures après	2,78	2,80	2,78	0,99
Cinq heures après	1,53	3,63	2,78	0,42
<i>Chien 69</i>				
Normal	1,99	3,75	2,86	0,53
Une heure après	2,90	3,99	3,31	0,54
Trois heures après	2,90	3,87	3,29	0,64
Cinq heures après	1,90	3,90	3,13	0,55
<i>Chien 70</i>				
Normal	1,93	3,75	3,04	0,51
Après saignée	2,06	3,81	2,89	0,54
Après injection	2,30	3,93	3,40	0,59
Une heure après	1,84	3,63	3,12	0,50
Trois heures après	1,21	3,63	3,06	0,33
Cinq heures après	1,83	3,63	3,40	0,50
Huit heures après	1,95	3,51	3,10	0,55
Vingt-quatre heures après . . .	1,92	3,51	3,20	0,55

certaines interventions chez l'homme. Cela laisse entrevoir la possibilité dans ce cas d'une origine toxique dont le point de départ pourrait se trouver au niveau du foyer opératoire, au sein de caillots sanguins secondairement altérés.

En compulsant l'historique des travaux effectués chez des animaux après injection intraveineuse de solutions d'hémoglobine, nous avons constaté qu'un certain nombre d'auteurs ont également signalé des phénomènes toxiques

du même ordre. Mais ils les ont généralement rapportés à la nature même de l'hémoglobine.

Couvreur et Clément, en 1919, reprenant sur des lapins l'expérience de Paul Bert, constata que l'animal « meurt au milieu de convulsions en poussant un grand cri, trois heures après l'injection ».

Paul Bert lui-même avait abandonné ses expériences parce que chez des animaux ainsi traités « la mort survenait plus vite même, ce semble, que si aucune injection n'avait été faite ».

Yoshu Fukuda et Oliver, injectant pourtant de très faibles doses à leurs animaux dans le but de déterminer le seuil d'élimination rénale de ce pigment, constatèrent des effets toxiques suivis de mort.

Matsumara, étudiant également l'élimination de l'hémoglobine, conclut que « l'hémoglobine par voie intraveineuse est toxique chez l'animal, une grosse dose provoque la mort avec des symptômes de dyspnée et de convulsions », « une partie de l'hémoglobine introduite dans la circulation sanguine est éliminée par l'intestin grêle » ; « l'hémoglobine injectée excite le centre automatique de l'intestin, les mouvements péristaltiques en sont augmentés ».

Si, dans tous ces travaux, nous nous reportons au mode de préparation de la solution d'hémoglobine, nous constatons que cette préparation est toujours très longue ou ne s'effectue pas d'une façon aseptique.

La méthode de Paul Bert entraînait des manipulations durant plusieurs jours, en outre « il réchauffait sa solution à 40° » ; celle de Couvreur et Clément ne tenait aucun compte de l'aseptie, de même que celle de Matsumara, qui place « les globules rouges dans une éprouvette graduée », « maintient le mélange à la glacière plusieurs jours » et « effectue ainsi plusieurs cristallisations ».

Il est vraisemblable que pendant un temps aussi long de préparation, les solutions d'hémoglobine ont dû subir des attaques microbiennes sous l'influence desquelles sont nées

des substances très toxiques surtout entérotropes. Aussi ne pouvons-nous souscrire aux conclusions qui accusent l'hémoglobine d'exercer une action excitatrice du centre automatique de l'intestin avec augmentation des mouvements péristaltiques.

En réalité il suffit, quand on prépare les solutions d'hémoglobine, d'agir vite et toujours aseptiquement pour supprimer cette action. C'est d'ailleurs la conclusion pratique à laquelle sont déjà arrivés Yoshu Fukuda et Oliver, qui n'ont pas cherché à en expliquer les raisons, ayant trouvé le moyen de supprimer ces actions toxiques « en réduisant le temps des manipulations et en opérant aussi rapidement que possible ».

CHAPITRE III

Etude toxicologique de l'hémoglobine en solution à 14 p. 100 administrée à dose thérapeutique, par voie veineuse, à des chiens ayant subi auparavant une forte saignée.

Selon la technique opératoire antérieurement décrite, nous avons fait à huit chiens, en état d'anémie expérimentale par saignée, une injection intraveineuse d'hémoglobine de cheval, en solution à 14 p. 100. Les solutions furent préparées en moins de douze heures d'une manière rigoureusement aseptique à partir de sangs recueillis, dans des flacons et avec un ajustage stérile, à la jugulaire de chevaux normaux à jeun depuis douze heures.

Comme nous l'avons vu, en raison de leur viscosité, les solutions d'hémoglobine à 14 p. 100 ne traversent les filtres Seitz qu'avec une extrême lenteur; et sauf dans un cas, où il ne nous fallait qu'une petite quantité de liquide hémoglobiné, nous nous sommes contentés de faire passer nos solutions sur des filtres simplement filtrants. Nous rapporterons de plus deux cas dans lesquels cette dernière précaution ne fut même pas prise, les solutions ayant été seulement longuement centrifugées et soigneusement décantées.

Pour toutes nos expériences, il ne s'est jamais écoulé plus de douze heures entre la fin de la préparation de nos solutions d'hémoglobine à 14 p. 100 et le moment de leur utilisation; et pendant tout ce temps, elles furent laissées au frigidaire à + 4°.

Nous exposerons tout d'abord l'une après l'autre les

observations des huit chiens expérimentés. Puis nous analyserons les troubles fonctionnels produits chez eux par ces injections d'hémoglobine, et enfin nous rapporterons les lésions histologiques observées au niveau des différents organes de certains d'entre eux.

I. — OBSERVATIONS

Nous ne mentionnerons pas dans ces observations toutes les remarques que nous avons pu faire au sujet de l'élimination et de l'utilisation par l'organisme de l'hémoglobine qui fut injectée. Ces renseignements trouveront leur place dans d'autres parties de ce travail. Nous ne rapporterons ici que les troubles fonctionnels ou les altérations organiques observées.

Deux chiens reçurent des solutions d'hémoglobine dans l'eau distillée pure, longuement centrifugées et soigneusement décantées mais non filtrées sur Seitz. Pour un autre chien, la solution d'hémoglobine fut également faite simplement dans de l'eau distillée pure, mais fut filtrée sur filtre Seitz filtrant, puis sur filtre stérilisant. Enfin, pour les cinq derniers chiens, les solutions d'hémoglobine furent amenées à une composition minérale analogue à celle du plasma sanguin de chien, et notamment additionnées de chlorure de sodium en quantités suffisantes pour les rendre isotoniques avec ce dernier milieu. En outre les solutions furent passées sur un filtre Seitz filtrant.

Nous grouperons donc les observations de ces huit animaux en trois catégories, d'après les modalités de préparation des liquides hémoglobines qui furent utilisés.

1^{re} CATÉGORIE. — *Observations de deux chiens ayant subi une saignée de 40 cc. de sang par kilogramme de poids du corps et après celle-ci une injection, en quantité correspondante à la moitié du volume de sang enlevé, d'une solution, non filtrée sur filtre Seitz, d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100 dans de l'eau distillée pure.*

Ces observations ont trait aux premiers chiens expérimentés dans le laboratoire, à une époque où l'on ignorait encore l'importance des lésions rénales produites par certaines solutions d'hémoglobine. Aussi les épreuves fonctionnelles ont-elles été dans ces cas assez restreintes. Les faits observés sont cependant significatifs comme nous allons le voir.

OBSERVATION VI

Chien 14 (d'après Sappey). — Poids 8 kilogrammes. Les examens des urines (éléments anormaux) et de sang (urée, cholestérol, glycémie numération et formule) étant faits, le 8 novembre 1935 l'animal fut saigné, en trois temps, d'un volume total de 470 cc. Après la saignée, il était inerte et froid; sa respiration était rapide et irrégulière; son pouls très accéléré. On pratiqua alors l'injection de 200 cc. d'une solution d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100, fraîchement préparée, mais non filtrée sur filtre Seitz. Dès l'administration des premiers 20 cc., les mouvements respiratoires s'amplifièrent et se régularisèrent, et bientôt le nombre de respirations à la minute descendit de 80 à 66, puis à 36. L'animal sortit de sa torpeur, et très rapidement se mit à se débattre violemment. L'injection dura vingt et une minutes. Le chien mis à terre « ne parut nullement se ressentir de l'intervention »; il marcha normalement et but avec avidité.

Il émit, six heures après, 200 cc. d'urine fortement chargée d'hémoglobine. Les jours suivants, l'état de l'animal fut excellent, mais divers symptômes ont mérité d'être notés.

Le lendemain de l'opération, 9 novembre, le chien n'urina pas. Il élimina dans la nuit du 9 au 10 : 150 cc. d'urines

seulement, et vers la fin de la journée du 10 : 230 cc. d'urines. Le 11 novembre, il émit 570 cc. Tous les échantillons d'urines excrétés jusqu'au 12 novembre inclusivement, contenaient de l'hémoglobine, en quantités décroissantes d'ailleurs. Ce n'est qu'à partir du 13 novembre, soit cinq jours après l'injection d'hémoglobine, que la diurèse redevint normale. Pendant ces cinq jours, cependant, le chien a mangé régulièrement sa ration quotidienne.

Le dosage d'urée sanguine ne fut pratiqué pour la première fois que le surlendemain de l'intervention. Le taux était alors de 0 gr. 70. Le quatrième jour, il fut de 0,55; le sixième, de 0,35 et à partir du huitième jour, aux environs de 0,25, chiffre déjà trouvé chez ce chien avant l'expérience.

En résumé, l'animal supporta très bien l'injection de la solution d'hémoglobine à 14 p. 100; mais il présenta pendant les cinq jours qui suivirent, en même temps que de l'hémoglobinurie, des troubles importants de la diurèse, caractérisés par de l'oligurie et une certaine irrégularité dans le cours des urines. En même temps le taux de l'azotémie s'éleva momentanément. Ces troubles disparurent d'ailleurs par la suite.

OBSERVATION VII

Chien 13 (d'après Sappey). — Poids 16 kilogrammes. Le chien ayant été reconnu normal, grâce aux analyses effectuées comme il a été mentionné antérieurement, on l'opéra le 10 novembre 1935, selon la même technique : saignée totale de 750 cc., puis injection en vingt minutes de 300 cc. d'une solution fraîchement préparée, mais non filtrée sur filtre Seitz, d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100, dans l'eau distillée pure.

Le chien, qui était inerte, avec des mouvements respiratoires très superficiels et très lents, et un pouls incomptable, à la fin de la saignée, présenta bientôt au cours de l'injection d'hémoglobine des mouvements respiratoires plus amples, plus réguliers. Les muqueuses se recolorèrent; et l'animal se mit à s'agiter et à aboyer. Détaché et mis à terre, il marcha,

quoiqu'il parut un peu haletant et titubant. Son rythme respiratoire était de 20 et son pouls battait 144 fois à la minute. Très rapidement le chien redevint apparemment normal et mangea sa ration quotidienne.

Quatre heures et six heures après l'injection d'hémoglobine, le chien émit, respectivement, 65 et 50 cc. d'urine fortement colorée par l'hémoglobine. Dans la nuit, il rejeta encore 350 cc. d'urine, de teinte porto. Le lendemain, 11 novembre, cependant, il n'urina pas; mais dans la nuit suivante et dans la journée du 12 novembre, il élimina en plusieurs fois 470 cc. d'urine chargée d'hémoglobine. Les jours ultérieurs, les urines furent abondantes et ne contenaient plus d'hémoglobine.

Les taux de l'urée sanguine furent les suivants :

Avant l'intervention	0,20
2 ^e jour après l'intervention	0,95
4 ^e jour après l'intervention	1,20
6 ^e jour après l'intervention	0,55
8 ^e jour après l'intervention	0,45
11 ^e jour après l'intervention	0,40

En résumé, cet animal supporta bien, comme le précédent, l'injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100, et il présenta une oligurie moins marquée et moins prolongée. L'hémoglobinurie ne dura que trois jours. Par contre, l'azotémie a été plus élevée et a duré beaucoup plus, puisqu'au onzième jour elle n'était pas encore revenue à la normale.

2^e CATÉGORIE. — *Observation d'un chien ayant subi une saignée de 40 cc. de sang par kilogramme de poids du corps et après celle-ci une injection intraveineuse, en quantité correspondant à la moitié du volume du sang enlevé, d'une solution, filtrée sur filtre Seitz filtrant, puis sur filtre Seitz stérilisant, d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100 dans l'eau distillée pure.*

L'histoire des deux chiens précédents nous apprit que les solutions d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100 pouvaient être

apparemment bien tolérées, mais qu'elles déterminaient des troubles de la diurèse plus ou moins intenses avec azotémie passagère. Nous nous sommes alors demandés si ces troubles ne pouvaient provenir de ce que les solutions, qui n'avaient pas été filtrées, mais simplement centrifugées, pouvaient encore contenir des débris de capsules globulaires susceptibles d'obstruer les voies d'élimination rénale; et nous avons expérimenté à nouveau sur un chien avec une préparation analogue à celle qui nous servit chez les animaux précédents, mais filtrée de plus sur filtre Seitz filtrant, puis sur filtre Seitz stérilisant. L'animal qui servit à cette expérience étant petit, nous n'avons eu besoin que d'une faible quantité d'hémoglobine et nous n'avons pu, avec de la patience, arriver à faire passer celle-ci sur les filtres les plus serrés. L'observation suivante montre que ces précautions n'ont servi à rien.

OBSERVATION VIII

Chien 62. — Poids 8 kilogrammes. Les examens habituels ayant été faits préalablement et aucune anomalie n'ayant été observée, on enleva à cet animal, le 28 novembre 1935, par ponction jugulaire, successivement 110, 125 et 60 cc. de sang de demi-heure en demi-heure, soit au total 325 cc., c'est-à-dire 40 cc. par kilogramme de poids du corps. On injecta ensuite en quinze minutes, 150 cc. d'une solution dans l'eau distillée d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100, préalablement filtrée sur filtre Seitz filtrant, puis sur filtre Seitz stérilisant.

L'animal, qui était très abattu et respirait faiblement, présentait des mouvements respiratoires plus amples et reprit de la vigueur. Mis à terre, il tituba quelque peu, puis se rétablit au bout de quelques minutes et se mit à marcher. Il refusa cependant de boire et de manger.

Le chien n'urina pas de toute la journée ni le lendemain, mais ne paraissait pas très abattu. Il but un peu de liquide, mais ne mangea pas.

Le surlendemain, l'état de l'animal s'aggrava. Il se mit à

vomir un liquide aqueux non sanglant. Il était assez prostré, refusant même de boire. Il n'urina toujours pas.

Le troisième jour, l'état de prostration s'accrut. Les vomissements persistèrent. Le chien n'émit encore aucune urine.

Il mourut dans la nuit du troisième au quatrième jour après l'opération, sans avoir émis depuis celle-ci la moindre quantité d'urine.

Les taux d'urée sanguine furent les suivants :

Avant	Lendemain	Surlendemain	3 ^e jour
0 gr. 18	1 gr. 60	3 gr. 80	4 gr. 60

En résumé, après l'injection de la solution d'hémoglobine à 14 p. 100, l'animal présenta une anurie complète et mourut en trois jours.

3^e CATÉGORIE. — *Observations de cinq chiens ayant subi une saignée de 30 cc. de sang par kilogramme de poids du corps et après celle-ci une injection intraveineuse, en quantité correspondant respectivement à la totalité ou à la moitié du volume du sang enlevé, d'une solution, filtrée sur filtre Seitz filtrant, d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100, rendue isotonique, par adjonction de Na Cl, au plasma sanguin de chien, et additionnée de divers sels minéraux à doses suffisantes pour avoir la même composition minérale que ce plasma.*

L'expérience précédente nous a appris que les troubles de la diurèse déclanchés par les injections de solutions d'hémoglobine à 14 p. 100 ne pouvaient être rapportées à des impuretés telles que des débris d'hématies restées en suspension dans le liquide, et qu'ils étaient bien dus à l'hémoglobine elle-même. Nous avons alors cherché à rendre celle-ci mieux tolérée par l'organisme en essayant d'amoindrir les différences qui existent entre les propriétés physico-chimiques et la composition minérale du plasma sanguin et celles de ces solutions d'hémoglobine à 14 p. 100.

Malheureusement les possibilités qui nous étaient offertes à cet égard étaient restreintes puisque nous ne pouvions changer ni la pression colloïdale osmotique, ni la viscosité, ni la densité, ni la tension superficielle. Nous avons, du moins, rendu ces solutions isotoniques au plasma sanguin par addition de Na Cl et amené leur composition minérale aux mêmes taux que celle de ce milieu. Les solutions furent en outre filtrées sur filtre filtrant.

Une première expérience nous permit de croire un instant que nous avions réalisé ainsi une grosse amélioration dans la préparation de ces solutions, au point de vue de la tolérance rénale, mais les quatre expériences qui suivirent nous montrèrent, en réalité, qu'il n'en était rien.

Dans ce groupe de recherches, nous avons poussé beaucoup plus loin que dans les groupes précédents, l'exploration fonctionnelle des reins et du foie, afin de préciser la nature et les caractères des troubles observés.

OBSERVATION IX

Chien 71. — Poids 11 kg. 400. Les divers examens et épreuves fonctionnelles étant effectués, et n'ayant rien révélé d'anormal, on enleva à cet animal 310 cc. de sang en deux fois par ponction de la veine fémorale, puis on lui injecta en quinze minutes 160 cc. d'une solution, filtrée sur filtre Seitz filtrant, d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100, rendue isotonique au plasma sanguin de chien, et contenant les mêmes sels minéraux que ce milieu.

L'animal qui avait été un peu abattu par la saignée récupéra sa vigueur après l'injection. Mis à terre, il circula normalement, mais refusa cependant de boire et de manger.

On préleva du sang pour analyses, après la saignée, de suite après l'injection, quatre heures après, puis tous les jours.

Sauf le jour même de l'injection où l'animal ne toucha pas à sa nourriture, le chien mangea ensuite abondamment; il était très vigoureux et paraissait en excellent état.

On trouvera ci-dessous les résultats des diverses analyses de

sang et d'urines, ainsi que des épreuves fonctionnelles qui ont été effectuées chez cet animal avant et après l'opération.

1° Dosages d'urée dans le sang :

Normal	0,39
Après saignée	0,45
Après injection	0,40
Quatre heures après	0,40
Deuxième jour	0,47
Troisième jour	0,60
Quatrième jour	0,42
Cinquième jour	0,43
Sixième jour	0,40

2° Examens des urines :

a) *Examens chimiques*

	Norm.	5 h. après	Nuit	2 ^e jour
Volume	—	160 cc.	320 cc.	800 cc.
Albumine	0,02			0,02
Autres élém. an.	0	0	0	0
Pig. bil.	0	0	0	+
Urobiline	0	0	0	0
HbO	0	3,4 %	0,9	tr.
	3 ^e jour	4 ^e jour	5 ^e jour	6 ^e jour
Volume	550 cc.	1100 cc.	1600 cc.	1070 cc.
Albumine	0,02	0,02	traces	0,02
Autres élém. an.	0	0	0	0
Pig. bil.	+	+	0	0
Urobiline	+	+	+	0
HbO	0	0	0	0

b) *Examens microscopiques*

	Norm.	5 h. après	Nuit	2 ^e jour
Hématies	0	0	0	+++
Leucocytes	+	0	0	+
Cylindres	0	hyal	0	0
Débris cel.	+	++	++	++
	3 ^e jour	4 ^e jour	5 ^e jour	6 ^e jour
Hématies	+++	+	+	+
Leucocytes	+++	+++	++	+
Cylindres	hem.	hem.	hem.	+
Débris cel.	+++	+++	+++	+++

3° Epreuves fonctionnelles :

a) *P. S. P.*

Avant : 77 p. 100 Cinq jours après : 65 p. 100

b) *Constante d'Ambard*

Avant : 0,11 Cinq jours après : 0,08

c) *Epreuves du rose bengale*

	Avant	5 jours après
5 minutes	8 milligrammes	6 milligrammes
15 minutes	4 milligrammes	3 milligrammes
30 minutes	0 milligramme	0 milligramme

d) *Epreuve de la galactosurie provoquée*

AVANT			
Galactose	Volume	Concent. p. 1000	Quantité élim.
2 heures	300 cc.	17,25	4 gr. 16
4 heures	15 cc.	30	0 gr. 45
10 heures	380 cc.	3,10	1 gr. 07
24 heures	1.500 cc.	0	0 gr.
			5 gr. 68
SIX JOURS APRÈS			
Galactose	Volume	Concent. p. 1000	Quantité élim.
2 heures	180 cc.	14,5	2 gr. 61
4 heures	70 cc.	13,5	0 gr. 94
10 heures	50 cc.	3	0 gr. 15
24 heures	870 cc.	0	0 gr.
			3 gr. 70

Ces résultats montrent, qu'après l'injection d'hémoglobine à 14 p. 100, l'animal n'a présenté que des troubles fonctionnels de l'excrétion rénale assez restreints et passagers. La diurèse a été un peu diminuée cependant pendant les trois premiers jours. L'azotémie s'est élevée à 0 gr. 60 le troisième jour, mais est redevenue normale le quatrième jour. Par contre, l'examen du culot de centrifugation des urines montra avec persistance des cylindres et des hématies. Les épreuves d'exploration fonc-

tionnelle du rein, pratiquées les cinquième et sixième jours, ne révélèrent qu'une faible diminution de l'élimination de la P. S. P. et de la diurèse provoquée. Quant aux épreuves d'exploration fonctionnelle du foie (R. B., galactosurie) elles n'ont rien montré d'anormal. Remarquons cependant la présence momentanée de quelques pigments biliaires et d'un peu d'urobilinurie dans les urines, signes sur la signification desquels il y a lieu de faire des réserves, en l'occurrence, comme nous l'avons déjà vu.

L'animal fut sacrifié, sept jours après l'injection d'hémoglobine en vue d'examens histologiques. Il était en parfait état.

OBSERVATION X

Chien 74. — Poids 11 kg. 200. Ce chien avait déjà reçu le 18 octobre 1938 une injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine à 6,5 p. 100. Il l'avait fort bien supportée. En fin janvier 1939, on pratiqua chez lui toute une série d'épreuves fonctionnelles et d'analyses qui ne révélèrent rien d'anormal ainsi qu'on peut le voir dans le tableau ci-dessous.

Le 31 janvier 1939, après une saignée correspondant à 15 cc. de sang par kilogramme de poids du corps, soit 170 cc. environ, on lui injecta, aussitôt après, un volume égal d'une solution d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100, rendue isotonique au plasma sanguin de chien, présentant la même composition minérale que ce dernier, et filtrée sur filtre Seitz filtrant.

L'animal, qui était un peu abattu après la saignée, récupéra rapidement sa vigueur après l'injection et se débattit violemment. Mis à terre, il circula avec entrain et mangea un peu de soupe.

Dans la journée, il n'urina pas et se montra apathique. La nuit, il vomit quelques glaires non sanglantes. Le lendemain, le chien n'émit aucune urine, mais ne vomit pas. Il mangea un peu.

Le surlendemain, il urina pour la première fois 500 cc. d'une urine contenant 0,4 p. 100 d'HbO (soit 2 gr. d'HbO). Le quatrième jour, il élimina 500 cc. A partir du sixième jour, la diurèse redevient importante ainsi qu'on peut s'en rendre compte par les chiffres suivants :

	Volume	HbO	Urée sanguine
Premier jour	0 cc.	0	0
Deuxième jour	0 cc.	0	0
Troisième jour	500 cc.	0,4 %	1,95
Quatrième jour	400 cc.	0	1,80
Cinquième jour	0 cc.	0	2,10
Sixième jour	1.780 cc.	0	0
Septième jour	1.200 cc.	0	0
Huitième jour	2.270 cc.	0	0
Vingt-cinquième jour		0	0,64

Par ailleurs, le chien qui se remit à manger normalement dès le troisième jour parut tout à fait normal.

On trouvera dans les tableaux ci-dessous les résultats des divers examens pratiqués chez ce chien avant, cinq à six jours et vingt-cinq jours après l'injection d'hémoglobine.

1° Examens de sang :

	Avant	5 jours après	25 jours après
Urée (xanthidrol)	0,51 ‰	2,10 ‰	0,64 ‰
N. résiduel	0,23	0,41	0,20
N. non protéique	0,47	1,37	0,50
N. aminé total	0,050	0,078	0,056
Polypeptides	0,028	0,039	0,038
Ac. aminés + NH ³ (en NH ³).	0,068	0,086	0,061
Protéines totales	58,20	58,60	65,6
Sérine	30,4	35,7	39,1
Globuline	27,8	22,9	26,5
Rap. Ser./Glob.	1,09	1,56	1,47
Fibrine	7,50	7,80	7,00
Ac. urique	0,012	0,015	0,012
Créatine	traces	traces	traces
Créatinine	0,017	0,030	0,018
Cholestérol	1,60	1,65	1,65
Lipémie	6,00	6,20	6,20
Bilirubine	0	0	0
Cl. total	2,89	3,21	3,25
Cl. plasmatique	3,64	3,63	3,72
Cl. globulaire	2,01	2,41	2,18
Rap. Cl. gl./Cl. pl.	0,55	0,66	0,58

2° Examens des urines :

	Avant	5 jours après	25 jours après
Albumine	0,23 $\frac{o}{oo}$	0,60 $\frac{o}{oo}$	0,10 $\frac{o}{oo}$
Glucose	0	0	0
Acétone	0	0	0
Urobiline	0	0	0
Pigm. bil.	0	0	0
Sels bil.	0	0	0
Indican	0	excès	0
Scatol	0	0	0
Albumoses	0	0	0
Urée	16,2	43,0	16,2
Coef. de Maillard	0,05	0,03	0,03
N. résiduel	1,70	2	1
Polypeptides	0	0	0
Ac. aminés + NH^3 (en NH^3) ..	0,60	0,90	0,50
N. non protéique	9,25	22,05	8,55
Ac. urique	0,15	0,20	0,12
Créatine	0,30	0,20	0,4
Créatinine	0,70	2,30	0,2
Chlorures	9,7	1	5,4
Cylindres	0	++	0

3° Epreuves fonctionnelles :

a) *Epreuve de la P. S. P.*

Avant	5 jours après	25 jours après
65 p. 100	40 p. 100	61 p. 100

b) *Constante d'Ambard*

Avant	5 jours après	25 jours après
0,07	0,29	0,19

c) *Epreuve du rose bengale*

	Avant	5 jours après	25 jours après
5 minutes : 9 milligr.		7 milligr.	8 milligr.
15 minutes : 2 milligr.		1 milligr.	2 milligr.
30 minutes : 0 milligr.		0 milligr.	0 milligr.

d) *Epreuve de la galactosurie provoquée*

AVANT			
	Vol.	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	230 cc.	18,6	4 gr. 27
4 heures	50 cc.	15	0 gr. 75
10 heures	320 cc.	trace	0 gr.
24 heures	650 cc.	0	0 gr.
			5 gr. 02
5 JOURS APRÈS			
	Vol.	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	175 cc.	12,5	2 gr. 18
4 heures	55 cc.	11,2	0 gr. 61
10 heures	900 cc.	0	0 gr.
24 heures	650 cc.	0	0 gr.
			2 gr. 79
25 JOURS APRÈS			
	Vol.	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	200 cc.	10	2 gr.
4 heures	50 cc.	12	0 gr. 60
10 heures	800 cc.	0	0 gr.
24 heures	700 cc.	0	0 gr.
			2 gr. 60

Il résulte de ces différents chiffres qu'après l'injection d'une solution d'hémoglobine à 14 p. 100, cet animal a présenté une phase d'anurie, puis d'oligurie et en définitive, dans les jours qui suivirent, les signes d'une néphrite caractérisée par une élévation très importante de la constante d'Ambard (0,29 au lieu de 0,07), une diminution très appréciable de l'élimination de la P. S. P. (40 p. 100 au lieu de 65 p. 100), une légère albuminurie, de la cylindrurie, et une réduction de la diurèse à l'épreuve de la galactosurie. Cette néphrite s'est accompagnée d'un trouble profond de l'élimination des déchets azotés, révélé dans les urines par une augmentation de l'azote résiduel, de l'azote au formol, et, dans le sang, par une élévation de l'azote résiduel, de la polypeptidémie, de l'ammoniémie et de la créatininémie. La plupart de ces symptômes se sont amendés par la suite. Au bout de vingt-cinq jours cependant le taux de l'urée sanguine était encore de 0 gr. 60.

Il est très remarquable que l'on n'ait décelé chez cet animal aucun trouble des fonctions hépatiques. Il n'a pas présenté d'urobilinurie. Le coefficient de Maillard est resté normal, ainsi que l'élimination du galactose (sauf la diurèse) et du rose bengale. Les taux du cholestérol, des graisses totales, de la bilirubine et de la fibrine dans le sang n'ont pas été modifiés. Le rapport sérine-globuline, loin d'être inversé comme on le voit chez des chiens atteints d'insuffisance hépatique, fut trouvé au contraire plus élevé qu'avant la transfusion. Nous reviendrons ultérieurement sur la signification de ce phénomène. Il est à signaler que les chlores sanguins n'ont pas subi de variations notables dans leur rapport.

En résumé, cet animal a donc présenté une néphrite pure sans insuffisance hépatique, néphrite qui s'est d'ailleurs améliorée notablement en quelques semaines, comme le montrent les résultats exposés dans les tableaux ci-dessus.

OBSERVATION XI

Chien 87. — Poids 24 kilogrammes. Le 2 décembre 1938, cet animal avait déjà reçu dans les veines une solution d'hémoglobine à 6,5 p. 100. Il avait très bien supporté cette injection et n'avait présenté aucun trouble par la suite. En fin janvier 1939, on pratiqua chez lui les mêmes analyses et les mêmes épreuves que pour le chien précédent et on ne constata rien d'anormal. Le 31 janvier 1939, on lui enleva 360 cc. de sang que l'on remplaça immédiatement par une quantité équivalente de la même solution d'hémoglobine de cheval, à 14 p. 100, que celle qui a été injectée au chien de l'observation ci-dessus.

Le chien qui était assez abattu après la saignée recouvra une partie de son énergie après l'injection d'hémoglobine. Cependant, il resta peu en train toute la journée. Il mangea en partie sa soupe, mais la vomit pendant la nuit. On trouva le lendemain matin dans le cristallisoir destiné à recueillir ses urines, des urines chargées d'hémoglobine et mélangées à du liquide de vomissement.

Le lendemain de la transfusion, l'animal n'urina pas; il

mangea cependant toute sa soupe et ne vomit plus; mais il resta assez apathique.

Le surlendemain, le chien urina pour la première fois, et émit d'un coup, 1.600 cc. d'urines contenant 0,3 p. 100 d'hémoglobine, soit 4 gr. 80. Dans la journée, il élimina, en une deuxième fois 555 cc. contenant 0,1 p. 100 d'hémoglobine, soit 0 gr. 50. L'urée sanguine, ce jour-là, fut trouvée à 1 gramme.

Le quatrième jour, le chien prit sa ration alimentaire quotidienne et semblait en parfait état; toutefois, il n'urina pas. L'urée sanguine était à jeun de 0,82.

Le cinquième jour, et les jours suivants, la diurèse redevint progressivement normale, ainsi qu'on peut s'en rendre compte par les chiffres ci-dessous :

Premier jour	0 cc.
Deuxième jour	0
Troisième jour	2.100
Quatrième jour	0
Cinquième jour	1.500
Sixième jour	1.360
Septième jour	1.600
Huitième jour	2.300

On pratiqua, du cinquième au huitième jour, les mêmes analyses et épreuves fonctionnelles qu'avant l'expérience. Les résultats se trouvent consignés dans les tableaux suivants :

1° Examens de sang :

	Avant	6 j. après	25 j. après
Urée xanthydrol	0,30 ‰	0,70 ‰	0,34 ‰
N. résiduel	0,13	0,24	0,13
N. non protéique	0,27	0,56	0,29
N. aminé total	0,046	0,072	0,046
Polypeptides	0,027	0,038	0,022
Ac. aminés + NH ³ (en NH ³) .	0,062	0,073	0,051
Protéines totales	66,6	64,1	62,7
Serine	36,6	35,5	37,4
Globuline	30	36,6	25,3
Rap. ser./glob.	1,12	2,60	1,48
Fibrine	8	7,5	7,50

	Avant	6 j. après	25 j. après
Ac. urique	0,010 ‰	0,013 ‰	0,014 ‰
Créatine	traces	traces	traces
Créatinine	0,016	0,029	0,015
Cholestérol	1,40	1,70	1,70
Lipémie	5,40	6,60	6,60
Bilirubine	0	0	0
Cl. total	2,97	3,20	3,21
Cl. plasmatique	3,60	3,58	3,65
Cl. globulaire	2,13	2,27	2,17
Rap. Cl. Gl./Cl. Pl.	0,59	0,66	0,59

2° Examens des urines :

	Avant	6 j. après	25 j. après
Albumine	0,07 ‰	0,75 ‰	0,35 ‰
Glucose	0	0	0
Acétone	0	0	0
Urobiline	0	0	0
Pig. bil.	0	0	0
Sels bil.	0	0	0
Indican	0	+	0
Scatol	0	0	0
Albumoses	0	0	0
Urée	6	33	18,6
Coef. de Maillard	0,10	0,06	0,05
N. résiduel	0,85	1,60	1,05
Polypeptides	0	0	0
Ac. aminés + NH ³	0,35	1,20	0,50
N. non protéique	3,65	17	9,70
Ac. urique	0,20	0,17	0,10
Créatine	0,10	0,10	0,4
Créatinine	0,30	1,80	0,9
Chlorures	5,20	6,8	0
Cylindres	0	++	0

3° Epreuves fonctionnelles :

a) *Epreuve de la P. S. P.*

Avant	6 jours après	25 jours après
62 p. 100	42 p. 100	32 p. 100

b) *Constante d'Ambard*

Avant	6 jours après	25 jours après
0,09	0,11	0,07

c) *Epreuve du rose bengale*

	Avant	6 jours après	25 jours après
5 minutes	6 milligr.	7 milligr.	6 milligr.
15 minutes	1 milligr.	2 milligr.	2 milligr.
30 minutes	0 milligr.	0 milligr.	0 milligr.

d) *Epreuve de la galactosurie provoquée*

AVANT			
	Volume	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	200 cc.	16	3 gr. 2
4 heures	20 cc.	6,4	0 gr. 12
10 heures	400 cc.	0	0 gr.
24 heures	900 cc.	0	0 gr.
			3 gr. 32
SIX JOURS APRÈS			
	Volume	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	170 cc.	11,25	1 gr. 91
4 heures	60 cc.	12,50	0 gr. 75
10 heures	470 cc.	0	0 gr.
24 heures	680 cc.	0	0 gr.
			2 gr. 66

En résumé, il résulte de cette observation que cet animal a présenté comme le précédent, après avoir reçu dans les veines une solution d'hémoglobine à 14 p. 100, de l'anurie et de l'oligurie pendant les quatre jours suivants, et que les diverses analyses et épreuves fonctionnelles pratiquées par la suite ont révélé l'existence d'une néphrite, d'ailleurs moins accentuée que pour le chien 74, mais qui n'en fut pas moins caractérisée dans le sang par une élévation des taux de l'urée, de l'azote résiduel, de l'N aminé, des polypeptides et de la créatinine; dans les urines par une augmentation de l'albumine, de l'azote résiduel, de l'azote formol et de la créatinine, et par la présence de cylindres. L'élimination de

la P. S. P. passa de 62 p. 100 à 42 p. 100 cinq jours après l'expérience et la constante d'Ambard s'est élevée légèrement. La diurèse provoquée se montra diminuée.

Tous ces troubles se sont d'ailleurs amendés pendant les semaines qui suivirent. Seule l'épreuve de la P. S. P. donna encore un résultat anormal au vingt-cinquième jour.

Chez cet animal, pas plus que chez le précédent, nous n'avons pu déceler de troubles fonctionnels du foie : on ne vit pas d'urobilinurie; le coefficient de Maillard, l'élimination du galactose, celle du rose bengale furent normales; et nous n'avons constaté aucune modification dans les taux du cholestérol sanguin, de la bilirubinémie, de la fibrinémie. Ici encore le rapport sérine globuline fut augmenté.

Notons que le rapport des chlores sanguins ne fut pas modifié.

OBSERVATION XII

Chien 77. — Poids 14 kg. 200. L'animal ayant été reconnu normal par les examens habituels, on le saigna de 450 cc., soit 30 cc. par kg. Le chien fut très abattu après la saignée. On lui injecta, en trente et une minutes, 225 cc. d'une solution, filtrée sur filtre Seitz filtrant, d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100, rendue isotonique au plasma sanguin de chien et de même composition minérale que ce milieu. L'animal, assez abattu après la saignée, récupéra son énergie antérieure après l'injection d'hémoglobine. Il ne mangea pas cependant la soupe qu'on lui présenta peu après, mais en but le bouillon avec avidité.

Des prises de sang pour analyses furent effectuées après la saignée, de suite après l'injection, toutes les deux heures durant le jour de l'expérience et une fois par jour ensuite.

L'animal n'urina pour la première fois que vingt-six heures après l'administration d'hémoglobine. Il émit alors 280 cc. d'une urine rouge brunâtre. Le lendemain et les jours suivants, le chien devint de plus en plus prostré. Il ne mangea presque pas, se contentant de boire le liquide de ses soupes. L'oligurie persista et s'accrut vers le septième jour. Le taux de l'urée

sanguine s'éleva progressivement. L'animal dépérit avec rapidité. Le dixième jour on le sacrifia alors qu'il était moribond.

Les résultats des examens de sang et d'urines pratiqués chez ce chien sont consignés dans les tableaux suivants :

a) *Dosage de l'urée sanguine*

Normal	0 gr. 18
Après saignée	0 gr. 32
Après injection	0 gr. 45
Deux heures après	0 gr. 60
Quatre heures après	0 gr. 75
Six heures après	0 gr. 90
Huit heures après	0 gr. 95
Deuxième jour	2 gr. 20
Troisième jour	3 gr. 30
Quatrième jour	4 gr. 20
Cinquième jour	3 gr. 70
Sixième jour	4 gr. 20
Neuvième jour	4 gr. 05

b) *Examen des urines*

	Normal	2 ^e jour	3 ^e jour	4 ^e jour	5 ^e jour	7 ^e jour
Volume	»	280 cc.	570	420	680	170
Hb O	0	0,7 %	0,1 %	0,05 %	0	0
Albumine	tr.	»	»	0,30	0,20	0,25
Urobiline	0	0	0	++	++	0
Pig. bil.	0	0	0	+	+	0
Sels bil.	0	0	0	0	0	0

Examen microscopique :

Cylindres ...	0	hem. +	gran. ++	gran. +	gran.	gran.
Hématies....	0	+++	+++	+++	++	+++
Leucocytes...	+	+	+	+++	+	+
Débris cel. ..	+	++	++++	+++	++	++

En résumé, ce chien présenta après l'injection d'une solution d'hémoglobine à 14 p. 100 une néphrite grave et progressive avec oligurie, élévation constante de l'azotémie, albuminurie et cylindrurie. La survie ne fut que de dix jours.

OBSERVATION XIII

Chien 84. — Poids 21 kg. Cet animal avait reçu le 21 octobre 1938 une injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine à 7 p. 100, qu'il avait parfaitement supportée sans présenter aucun trouble. En fin janvier 1939, on pratiqua les diverses analyses et épreuves fonctionnelles habituelles qui ne révélèrent rien d'anormal, comme on peut le voir sur le tableau ci-dessous et les tableaux suivants :

a) <i>Constante d'Ambard</i>	0,07
b) <i>P. S. P.</i>	73 %

c) *Rose bengale*

Cinq minutes	7 milligr.
Quinze minutes	1 milligr.
Trente minutes	0 milligr.

d) *Galactosurie provoquée*

	Vol.	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	200 cc.	13,20	2 gr. 64
4 heures	50 cc.	4,10	0 gr. 20
10 heures	400 cc.	0	0 gr.
24 heures	750 cc.	0	0 gr.
			2 gr. 84

Le 31 janvier 1939, après une saignée de 315 cc. de sang, on lui injecta 300 cc. d'une solution, filtrée sur filtre Seitz filtrant, d'oxyhémoglobine de cheval à 14 p. 100, rendue isotonique au plasma sanguin de chien et de même composition minérale que ce dernier milieu. Le chien ne parut pas sensiblement fatigué par cette saignée et cette injection. Il mangea sa soupe peu après, mais il vomit à plusieurs reprises dès la fin de l'après-midi.

Le lendemain, l'animal était beaucoup plus abattu; il n'urina pas et vomit plusieurs fois; il refusa toute alimentation.

Le surlendemain, les vomissements continuèrent. Le chien urina 70 cc. seulement d'une urine contenant 1,1 p. 100 d'hémoglobine (soit 0,07). Le taux de l'urée sanguine était de 4 gr. 30. Dans le plasma sanguin on dosa 0,5 d'hémoglobine.

Le quatrième jour, situation sans changement. L'animal n'urina pas et vomit toujours.

Le cinquième jour, l'animal était de plus en plus prostré. Il n'émit que 200 cc. d'une urine brunâtre qui ne contenait pas d'hémoglobine. Il ne but ni ne mangea et continua à vomir.

Le sixième jour, le chien émit 1.100 cc. d'urines brunâtres; mais il était extrêmement apathique et refusa toute alimentation. On pratiqua une saignée pour effectuer des dosages et on coucha ensuite l'animal sur une table pour pratiquer l'épreuve au rose bengale; mais huit minutes après l'injection, le chien mourut. Il avait maigri de 2 kg. 600 en six jours.

Voici les résultats des différents examens effectués sur le sang et les urines de cet animal chez lequel nous n'avons pas pu pratiquer, en raison de sa quasi anurie, les épreuves de la P. S. P. et de la galactosurie provoquée, ni calculer la constante d'Ambard.

<i>Sang</i>	Avant	6 j. après
Urée au xanthidrol	0,39 gr. ^o / ₁₀₀	5,60 gr. ^o / ₁₀₀
N. résiduel	0,10	0,65
N. non protéique	0,28	3,25
N. aminé total	0,070	0,118
Polypeptides	0,026	0,050
Ac. aminés + NH ³ (en NH ³).	0,060	0,124
Protéines totales	63,2	49,1
Sérine	34,5	35,5
Globuline	29,7	13,9
Rap. Ser./Glob.	1,22	1,41
Fibrine	7,0	8,5
Ac. urique	0,011	0,14
Créatine	traces	traces
Créatinine	0,017	0,037
Cholestérol	1,50	1,95
Lipémie	5,50	7,40
Bilirubine	0	0
Cl. total	2,80	3,18
Cl. plasmatique	3,45	3,62
Cl. globulaire	1,90	2,47
Rap. Cl. gl./Cl. plasm.	0,54	0,68

Urines

	Avant	6 j. après
Albumine	0,04 gr. o/oo	0,65 gr. o/oo
Glucose	0	0
Acétone ..	0	0
Urobiline	0	0
Pig. bil.	0	0
Sels bil.	0	0
Indican	0	+++
Scatol	0	+
Albumoses	0	0
Urée	12,3	10,0
Coef. de Maillard	0,04	0,15
N. résiduel	0,90	1,50
Polypeptides	0	0
Ac. aminés + N H ³	0,35	0,85
N. non protéique	6,65	6,15
Ac. urique	0,35	0,18
Créatine	0,20	0,40
Créatinine	0,50	0,35
Chlorures	4,30	1,50
Cylindres	0	++

En résumé, ce chien, comme le précédent, présenta après l'injection d'une solution d'hémoglobine à 14 p. 100 dans les veines un syndrome d'insuffisance rénale aigu rapidement mortel. L'anurie fut ici pratiquement complète pendant quatre jours. Le taux de l'azotémie s'éleva progressivement jusqu'au chiffre formidable de 5 gr. 60 au sixième jour, au moment de la mort. Dans le sang on a observé une augmentation considérable de l'azote résiduel (0,65 au lieu de 0,10), de l'azote au formol, de la polypeptidémie, de la créatininémie. Dans les urines, on nota une forte cylindrurie, une albuminurie, d'ailleurs modérée, et une augmentation également de l'azote résiduel et de l'azote au formol.

Nous n'avons pu juger de l'état du foie que par peu

d'éléments. Il est remarquable que ce chien n'ait pas présenté d'urobilinurie et que dans le sang il ne se soit produit aucune modification appréciable dans les taux de la bilirubinémie et de la fibrinémie. Le rapport sérine/globuline s'est peu modifié. Cependant les taux de cholestérol et de graisses totales du sang s'élevèrent, ce qui se voit assez habituellement, chez le chien, dans les atteintes hépatiques.

L'atteinte de cet organe n'a été cependant que secondaire; et elle ne s'est traduite en somme cliniquement que par des signes de peu d'importance.

II. — ANALYSE DES TROUBLES FONCTIONNELS PRODUITS PAR L'ADMINISTRATION A DOSE THÉRAPEUTIQUE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL A 14 P. 100, EN INJECTION INTRA-VEINEUSE, CHEZ LE CHIEN AYANT SUBI PRÉALABLEMENT UNE FORTE SAIGNÉE.

1° De la constance des troubles rénaux produits par de telles solutions

Il résulte de l'analyse détaillée des observations précédentes que les injections intraveineuses de solutions d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100 ne déterminent pas de malaises apparents, au moment où elles sont pratiquées. Les chiens supportent parfaitement l'administration de doses importantes de telles solutions : ils nous ont paru du moins, par leur allure générale, ne souffrir d'aucun trouble. Tout au contraire, nous verrons ultérieurement que de telles injections faites après saignée combattent efficacement et très rapidement les accidents graves, immédiats, que peuvent occasionner les grandes déperditions de sang.

Malheureusement, par la suite, il se produit avec une extrême fréquence des perturbations dans le fonctionnement des reins, perturbations liées de toute évidence à l'élimination de l'hémoglobine par ces organes. Les troubles sont d'ailleurs d'intensité extrêmement variable, puisque

nous avons assisté dans un cas à la mort par anurie complète (chien 62) et que dans d'autres cas, la diurèse n'a été que peu et passagèrement diminuée (chiens 14, 15, 71). Mais, même chez ces derniers animaux, nous avons pu déceler, au moins momentanément, des signes d'altération du rein. Cet organe nous a donc paru constamment lésé après l'administration dans les veines de solutions d'hémoglobine à 14 p. 100; et l'examen histologique devait en effet nous démontrer qu'il en était bien ainsi.

2° *Formes cliniques des troubles fonctionnels du rein après injections intraveineuses de solution d'hémoglobine à 14 p. 100.*

Nous avons observé quatre formes de néphrite chez nos huit animaux traités par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 14 p. 100 :

- a) Une forme anurique rapidement mortelle;
- b) Une forme oligurique entraînant progressivement la mort;
- c) Une forme avec oligurie passagère, mais néphrite persistante, d'ailleurs améliorable;
- d) Une forme bénigne et passagère avec oligurie légère et signes de néphrite discrète.

a) *Forme anurique rapidement mortelle.* — Dans sa forme la plus grave, l'atteinte des reins se traduit par l'anurie qui ne cède pas jusqu'à la mort de l'animal, laquelle survient généralement au bout de quelques jours (trois jours après, dans le cas du chien 62; six jours après, dans celui du chien 84). Pendant cet intervalle de temps, le chien se présente dans un état de torpeur et d'abattement progressivement croissant : il refuse à peu près toute alimentation ou boit seulement un peu de liquide et vomit d'ailleurs avec fréquence. Mais il y a lieu de remarquer que les vomissements n'ont rien ici de commun avec ceux que nous avons observés chez les chiens intoxiqués avec de

l'hémoglobine altérée; car, à l'inverse de ceux-ci, ils ne sont pas sanglants. De plus, ils ne surviennent pas aussitôt après l'injection, mais seulement dans les jours suivants. En dehors de ces symptômes, l'animal n'offre à considérer aucun autre signe très caractéristique : il n'a pas de dyspnée, pas d'œdème, pas d'ascite, il ne présente ni convulsions, ni paralysies, ni coma. Il s'éteint peu à peu, après avoir manifesté un état d'extrême fatigue qui fait qu'il reste constamment couché dans son coin, en boule, et que si on l'oblige à se lever et à marcher, il se traîne péniblement. Ajoutons qu'il maigrit très vite. Enfin, nous verrons que sa régénération globulaire est pour ainsi dire annulée et fait même parfois place à une déperdition d'hématies. Les analyses montrent en pareil cas des rétentions uréiques progressives qui peuvent atteindre des taux considérables (chien 84, 5 gr. 60, observation XIII). Parallèlement se constitue une rétention de plus en plus marquée de tous les déchets azotés de nature non protéique. Par contre, malgré la gravité du cas, les chlores sanguins sont relativement peu modifiés.

b) *Forme oligurique entraînant progressivement la mort.*

— Dans une autre forme, la diurèse n'est pas complètement supprimée comme dans le cas précédent, mais elle se trouve fortement diminuée et les troubles uréiques finissent par emporter l'animal dans un délai qui, quoique plus long que dans les cas précédents, n'en est, pourtant, pas moins restreint. Ce fut le cas notamment du chien 77 (observation XII), chez lequel la néphrite évolua vers la mort en onze jours, le taux de l'urée étant finalement monté à 4 gr. 05. Il n'urina pour la première fois qu'au bout de vingt-six heures et en petite quantité, soit 260 cc.; et, dans les jours suivants, le volume des urines émises quotidiennement dépassa rarement 500 cc. par jour, alors qu'avant l'intervention cet animal urinait normalement deux litres par jour.

Notons que les premiers jours après l'intervention, ce chien ne cessa de boire avec avidité.

Le tableau clinique présenté par les animaux, dans cette forme, est du même ordre que dans le cas précédent, mais avec des symptômes généraux moins intenses. Les chiens sont, au début, plus alertes. Ils acceptent de boire et ce n'est qu'après sept à huit jours qu'ils deviennent complètement apathiques et anorexiques.

Ils ne présentent non plus ni œdème, ni ascite, ni dyspnée. Les analyses de sang et d'urines montrent en pareil cas qu'il s'agit d'une néphrite avec rétention principalement des substances azotées de nature non protéique. On observe une forte urémie, une élévation de la polypeptidémie, de l'ammoniémie et de la créatininémie. Dans les urines, on trouve de nombreux cylindres, surtout des cylindres granuleux et hématiques et des débris cellulaires qui semblent en majeure partie constitués par des hématies éclatées. La présence de celles-ci traduit vraisemblablement la congestion de reins et la lésion des vaisseaux. L'albuminurie reste modérée.

Les épreuves fonctionnelles montrent une diminution considérable de l'élimination de P. S. P., une élévation de la constante d'Ambard et une opsiurie très prononcée à l'épreuve de la diurèse.

c) *Forme avec oligurie passagère, mais néphrite persistante, d'ailleurs améliorable.* — Des formes moins graves, n'entraînant pas la mort, mais caractérisées néanmoins par des troubles importants, ont été observées dans quatre cas sur huit (chien 14, observation VI; chien 13, observation VII; chien 74, observation X; chien 84, observation XIII). Les troubles de la diurèse dominent ici encore le tableau pendant les premiers jours; mais ils sont moins intenses et peuvent au reste affecter divers types. Ainsi le chien 14 urina la première fois six heures après l'injection, puis resta ensuite vingt-quatre heures sans émettre d'urines,

après quoi il élimina 380 cc. le troisième jour, 570 cc. le quatrième jour; et ce n'est que le cinquième jour que le taux des urines dépassa 1 litre. Le chien 15 présenta de la pollakiurie qui débuta trois heures après l'injection d'hémoglobine, mais il n'émit en tout que 935 cc. d'urines, d'ailleurs chargées d'hémoglobine, en trois jours ! Les chiens 74 et 84 n'urinèrent l'un et l'autre pour la première fois que le surlendemain de l'intervention; et ce n'est que peu à peu, par la suite, que la diurèse se rétablit.

A part ces troubles urinaires, tous ces animaux ne présentèrent aucun signe pathologique. Tous mangèrent plus ou moins leur soupe, peu après l'injection d'hémoglobine; mais deux d'entre eux, il est vrai, les chiens 74 et 84, vomirent la nuit suivante. Dès le lendemain, l'appétit était du moins redevenu normal et les animaux présentaient leur entrain habituel.

Les diverses analyses et épreuves fonctionnelles n'en montrèrent pas moins cependant, même après le retour de la diurèse à son taux habituel, des signes de néphrite du même ordre, quoique moins prononcés, que ceux que nous avons rapportés dans les formes précédentes. On observe ainsi, dans le sang : de l'hyperazotémie oscillant entre 0 gr. 70 et 2 gr. 10, l'élévation de l'N résiduel, de l'ammoniémie, de la polypeptidémie et de la créatininémie; et, dans les urines, une augmentation également de l'azote résiduel, de l'azote formol, de la créatinine et la présence de cylindres hématiques granuleux ou hyalins. L'albuminurie s'élève également, mais d'une manière modérée.

Les épreuves fonctionnelles montrent une diminution de l'élimination de la P. S. P., une élévation de la constante d'Ambard, de l'opsiurie à l'épreuve de la diurèse.

Pas plus chez ces animaux que chez les chiens précédents, nous n'avons observé de modification dans le taux des chlorures du sang. Les chiens n'ont présenté ni œdème, ni ascite. Et si le taux des chlorures peut être diminué dans les urines dans les premiers jours, alors que les animaux

ne mangent pas, il se rétablit rapidement par la suite.

Les chiens ainsi atteints de néphrite conservent d'ailleurs un excellent état général. Au reste, les signes de néphrite peuvent s'atténuer en quelques semaines, mais non sans laisser parfois des séquelles persistantes.

d) *Formes de néphrite discrètes et passagères.* — Enfin, dans un cas sur huit, l'altération fonctionnelle des reins nous parut assez bénigne, du moins cliniquement (chien 71, observation IX). L'animal, remis dans sa cage peu après l'injection, but et mangea aussitôt sa soupe. Il resta constamment vigoureux et alerte. Il émit cinq heures après l'injection 160 cc. d'urine fortement chargée d'hémoglobine, puis dans la nuit, à nouveau 320 cc. Dès le lendemain, la diurèse fut de 800 cc. et se maintint par la suite à des taux normaux. Apparemment, l'appareil rénal ne paraissait pas troublé dans son fonctionnement. Cependant, l'urée sanguine s'éleva le troisième jour à 0 gr. 60 et, dans les urines, on constata la présence de cylindres hyalins et hématiques. L'élimination de P. S. P. se montra un peu diminuée. L'épreuve de la diurèse révéla une légère opsiurie. Bref, il existait tout de même chez ce chien, en dépit des apparences, des troubles légers du fonctionnement rénal.

3° *Des variations d'intensité des troubles rénaux provoqués par l'administration intraveineuse d'une solution d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100.*

Ainsi, dans huit cas sur huit, nous avons constaté chez nos chiens, après injection d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100, des troubles fonctionnels des reins, qui ont entraîné dans trois cas la mort de l'animal (forme anurique, deux cas; forme oligurique grave, un cas), dans quatre cas des signes de néphrite importante quoique non mortelle, et dans un cas des signes de néphrite plus légers.

La diversité du comportement des animaux soumis à une

telle expérimentation est donc très grande, mais il est difficile de discerner les causes de ces différences.

Nous avons fait varier dans nos recherches un certain nombre de facteurs, mais aucun ne paraît avoir d'importance primordiale à cet égard.

Dans le seul cas où nous avons injecté une solution filtrée sur filtre Seitz stérilisant, nous avons observé une néphrite mortelle par anurie. Ce n'est évidemment pas la filtration qui en fut la cause, mais le moins que l'on puisse dire est que celle-ci n'a pas empêché les accidents.

S'il est vrai par ailleurs que c'est avec une solution rendue isotonique au plasma sanguin de chien et dont la composition minérale était analogue à ce dernier que nous avons observé dans un cas les troubles les plus légers (chien 71, observation IX), de telles préparations ont cependant produit dans deux autres cas des troubles mortels (chiens 77 et 84, observations XII et XIII) et dans deux autres encore (chiens 74 et 87, observations X et XI) des néphrites non mortelles, mais tout de même fort importantes.

Les quantités de solution injectées ont varié de 150 cc. à 300 cc., selon le poids des chiens, et par rapport à celui-ci de 15 à 25 cc. par kilogramme. Or, dans ces limites, nous n'avons pas pu observer de différences dans le comportement des animaux selon que la dose administrée fut plus ou moins importante. Ainsi le chien 84 (observation XIII), qui ne reçut qu'une quantité équivalente à 15 cc. par kilogramme de poids du corps, présenta une néphrite oligurique avec urémie progressive, mortelle; et les chiens 14 (observation VI) et 15 (observation VII), qui reçurent des doses égales à 25 cc. par kilogramme, ne firent que des néphrites d'intensité moyenne.

L'importance de la saignée préalable ne semble pas avoir eu non plus d'influence appréciable, dans les limites du moins où nous l'avons pratiquée et qui ont varié de 15 à 50 cc. de sang par kilogramme. De même les accidents ne

paraissent pas avoir été en rapport avec la vitesse d'injection du liquide hémoglobiné, vitesse qui a oscillé dans nos expériences entre quinze et trente minutes.

Force nous est, dès lors, de conclure, pour le moment, que la tolérance des reins des animaux est variable selon les sujets. Les chiens présentent souvent de petites lésions discrètes des reins qui ne s'extériorisent cliniquement par aucun trouble. Mais ces états de débilité antérieure doivent cependant influencer sur leur réceptivité vis-à-vis des substances toxiques.

4° *Caractères généraux des néphrites produites par les injections intraveineuses de solutions d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100.*

S'il est vrai que certaines variations peuvent s'observer dans le degré des atteintes rénales produites par les injections d'hémoglobine à 14 p. 100, il n'en reste pas moins que ces atteintes sont habituellement très graves.

Le signe le plus précoce, le plus évident, le plus alarmant aussi, que l'on observe, est la diminution, parfois la suppression de la diurèse. On a l'impression qu'un drame se passe au niveau des reins et les examens histologiques que nous rapporterons tout à l'heure montrent qu'il en est bien ainsi. Tout se passe comme si l'hémoglobine injectée dans la circulation provoquait un tel encombrement des tubes urinaires que, pour employer une expression profane mais qui exprime bien le processus, les reins se trouvent « bouchés ». S'ils ne se « débouchent » pas ou se « débouchent » mal, c'est la mort par anurie ou oligurie avec urémie progressive. Mais si l'encombrement peut n'être que de courte durée ou de faible importance, la diurèse se rétablit peu à peu et l'on n'observe plus que les troubles plus ou moins graves liés à l'altération des tubes urinifères, altération provoquée par l'hémoglobine qu'ils ont dû éliminer, ou entretenue par celle qu'ils ont retenue.

Un second caractère clinique de ces néphrites est l'importance et la constance de la cylindrurie, en rapport évident avec l'élimination de l'hémoglobine. Il s'agit de cylindres hématiques, granuleux et hyalins, et leur présence dans les urines persiste longtemps après la fin de l'hémoglobinurie.

Nous avons aussi fréquemment constaté des hématies dans le culot des urines. Mais pour réaliser l'exploration fonctionnelle du rein et du foie, ces animaux durent être fréquemment sondés; et il est possible que de petites lésions irritatives du canal aient pu être parfois la cause de ces petites hématuries microscopiques. Cependant, nos animaux ne furent pas toujours sondés; et nous avons pu observer néanmoins des hématies dans leurs urines. Il est probable que la présence de celles-ci a traduit la congestion des vaisseaux rénaux.

Du point de vue strictement fonctionnel, il est très remarquable de souligner que la néphrite produite par l'injection d'hémoglobine à 14 p. 100 est une néphrite azotémique avec rétention dans le sang de déchets azotés non protéiques. Aucun de nos animaux en effet n'a présenté d'œdème périphérique, ni d'anasarque, ni d'œdème pulmonaire. Le taux des chlores sanguins ne s'est pas sensiblement modifié et, si dans les formes sévères on a vu se produire un peu d'albuminurie, celle-ci fut toujours très modérée et ne dépassa pas 0 gr. 75 p. 1.000. Encore faut-il remarquer que de tels taux n'ont été observés que dans les urines suivant immédiatement la fin de l'hémoglobinurie et il est probable qu'ils peuvent être rattachés à la présence de traces non décelables d'hémoglobine.

Une telle néphrite, lorsqu'elle n'est pas trop grave d'emblée, peut s'améliorer par la suite. A la période aiguë du début fait suite une phase de néphrite plus modérée, mais persistante. Celle-ci peut s'atténuer ultérieurement, mais laisse souvent quelques séquelles.

5° *Etat fonctionnel du foie chez des chiens ayant subi une injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine à 14 p. 100.*

Si le rein s'est trouvé constamment lésé chez nos chiens, il est très remarquable que le foie n'a pas paru le plus souvent avoir beaucoup souffert.

Chez les animaux ayant présenté des néphrites graves, mais non mortelles, et *a fortiori* chez ceux qui ont eu des troubles rénaux plus légers, la rétention du R. B. et l'élimination du galactose se sont constamment montrées normales. Dans les urines, nous avons observé parfois de l'urobiline et des pigments biliaires. Nous n'en avons pas conclu à une insuffisance fonctionnelle du foie pour cela; car nous pensions que la fonction biliaire avait pu se trouver un peu débordée du fait de l'afflux dans l'organisme d'un excès de matière première. Cette explication est plausible; mais il existe aussi une autre origine vraisemblable à cette pigmenturie : c'est la production d'une biligénie locale intrarénale, dont nous verrons la réalité lors des examens histologiques.

Ni le taux de la bilirubinémie, ni ceux du cholestérol et des graisses du sang, ni celui de la fibrinémie ne se sont montrés modifiés dans les jours suivant la transfusion.

Le rapport sérine/globuline, que MM. Aubertin, Lacoste, Martinet et de Lachaud ont montré être constamment abaissé chez les chiens atteints d'hépatite expérimentale, fut ici plutôt accru.

Chez les chiens qui sont morts en quelques jours d'anurie ou d'oligurie progressive, nous n'avons pas pu explorer le foie d'une façon précise. Les dosages effectués sur le sang cependant ont montré des modifications des constantes chimiques de ce milieu, telles que l'élévation de la lipémie, de la cholestérolémie, une légère diminution de la fibrinémie qui peuvent être considérées comme traduisant une

déficience hépatique. Celle-ci dans tous les cas n'apparaît que dans les cas graves et passe au deuxième plan.

6° *Etat fonctionnel des autres organes*

Quant aux autres appareils, certains d'entre eux n'ont présenté, du moins apparemment, des troubles dans leur fonctionnement que dans les cas graves, et d'une façon secondaire, du fait de l'intoxication urémique. C'est évidemment à celle-ci qu'il faut rapporter l'anorexie, les vomissements et l'apathie observés chez ces animaux. Signalons d'ailleurs que nous n'avons observé chez aucun de nos chiens ni convulsions, ni paralysie, ni coma, ni dyspnée, ni œdème pulmonaire, ni signe d'insuffisance cardiaque.

III. — ETUDE DES LÉSIONS HISTOLOGIQUES PRODUITES PAR L'INJECTION INTRAVEINEUSE A DOSE THÉRAPEUTIQUE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL A 14 P. 100, CHEZ LE CHIEN AYANT SUBI PRÉALABLEMENT UNE FORTE SAIGNÉE.

Nos examens ont porté sur les principaux organes de trois chiens, les chiens 62 (observation VIII), 77 (observation XII) et 71 (observation IX). Rappelons que le premier est mort en quatre jours sans avoir uriné et que le second, chien 77, est mort au dixième jour, après avoir présenté une urémie progressive à forme oligurique. Quant au troisième (chien 71), il n'a été atteint que d'une néphrite légère. La diurèse fut un peu diminuée les premiers jours, mais se rétablit ensuite normalement. L'exploration fonctionnelle des reins n'a permis de déceler que des signes d'insuffisance frustes et passagers : azotémie à 0,60 le treizième jour; petite diminution de l'élimination de la P. S. P.; opsiurie modérée à l'épreuve de la diurèse. Cependant la cylindrurie persista. L'animal fut sacrifié, en parfait état, sept jours après l'injection d'hémoglobine.

Le rapprochement des examens pratiqués chez ces trois chiens permet d'avoir une vue d'ensemble des lésions que peuvent entraîner les solutions d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100. Au lieu de décrire ces lésions par animal, nous les rapporterons par organe et, pour chaque groupe d'organes, par chien.

1° Examens histologiques des reins

Chien 62 (mort en état d'anurie au bout de quatre jours).

— Macroscopiquement, ces reins étaient noirs, présentant à la coupe des tranches d'un noir tirant sur le violet.

A l'examen microscopique, on observe des lésions extrêmement graves et étendues de néphrite épithéliale intéressant la totalité de l'organe.

Les tubes urinaires présentent des altérations importantes dans leurs diverses régions, avec des phénomènes de congestion et de dilatation vasculaire très prononcés (microphoto I). Dans beaucoup de ces tubes, on note les lésions habituelles de desquamation cellulaire totale ou subtotale. Dans les zones moins atteintes, des décapitations cellulaires avec exode abondant de boules sarcodiques témoignent de l'intensité du processus (microphoto IX).

Cet état coïncide avec des images d'élimination de l'hémoglobine, images qui se traduisent par l'existence de nombreux cylindres granuleux, homogènes ou en tablettes, que l'on trouve dans toutes les parties du rein, mais avec une abondance fortement prédominante dans la zone intermédiaire de l'organe (microphoto V).

La plupart des glomérules sont intacts. D'autres présentent dans leur cavité un exsudat fibrineux, granuleux, plus ou moins abondant, ne contenant ni cellules, ni globules rouges. La signification de ces lésions est d'interprétation difficile, étant donné que les prélèvements n'ont pu être faits sur un animal sacrifié, mais un peu après la mort. En tout état, nous n'avons pas constaté d'images d'imprégna-

tion par le cyanol de ces filtrats glomérulaires. Par contre, dans un certain nombre de points, l'hémoglobine en voie d'élimination a commencé de se transformer et on trouve des cylindres constitués par du pigment vert ne donnant pas la réaction du fer, et associés ou non à des cellules ou des fragments de cellules desquamées.

En somme, l'examen histologique explique parfaitement l'état d'anurie à peu près complète de ce chien, dont les tubes urinaires, plus ou moins décapés, étaient obstrués par des cylindres formés notamment d'hémoglobine ou de pigment dérivé, de cellules ou de débris de cellules desquamées, et par surcroît se trouvaient entourés d'un tissu interstitiel œdématisé et congestionné.

Chien 77 (mort au bout de dix jours en état d'urémie progressive avec oligurie). — L'aspect macroscopique était du même ordre que dans le cas précédent, bien que la teinte noirâtre fût moins accusée.

A l'examen microscopique, on constate que l'encombrement des tubes urinaires par l'hémoglobine a été moins total chez ce chien que chez le précédent; mais l'élimination de cette substance s'est faite cependant dans de très mauvaises conditions. Ce qui domine, en effet, c'est la surcharge pigmentaire liée à la présence de très nombreux cylindres, surtout abondants dans la zone intermédiaire et dans la zone papillaire (microphoto VI), et qui obstruent un très grand nombre de tubes. Ces cylindres donnent avec une intensité variable la réaction au cyanol, ce qui témoigne de leur charge variée en hémoglobine.

Nous reviendrons dans le dernier chapitre de ce travail sur les particularités qui montrent l'évolution de ce pigment ainsi retenu dans les canaux urinaires, notamment sur les processus de résorption, de transformation, de pigmentogénèse et de fixation dans les cellules des tubes.

Disons seulement, ici, que cette surcharge pigmentaire n'a pas été sans déterminer des lésions destructives graves

entraînant la desquamation des tubes et des phénomènes réactionnels du tissu conjonctif. Ces processus ont abouti par endroits à la destruction complète des tubes urinaires ou à leur effacement, et à la constitution de noyaux et de plages étendues de néphrite interstitielle (microphoto VII).

Ces phénomènes réactionnels sont particulièrement accusés au niveau de la substance corticale, où il ne reste plus que de rares plages de tubes contournés d'aspect normal, voisinant avec de nombreux segments plus ou moins altérés, à lumière large ou au contraire collabée et effacée, et qui sont engainés dans une atmosphère de tissu conjonctif riche en cellules renfermant ou non des débris pigmentaires (microphoto X).

Les glomérules, qui en dehors des zones de néphrite interstitielle réactionnelle sont d'aspect normaux, présentent naturellement dans ces zones des signes divers d'atrophie.

En définitive, l'élimination de l'hémoglobine ayant été insuffisante chez ce chien, des cylindres d'hémoglobine plus ou moins transformée ont persisté dans un grand nombre de tubes, dont les cellules ont été desquamées et dont la lumière est restée obstruée. La présence de ces cylindres hémoglobiniques a provoqué, en outre, des zones de néphrite interstitielle arrivant à effacer ou à détruire à son tour d'autres tubes.

On conçoit dans ces conditions que l'animal ait pu présenter une urémie évoluant progressivement vers la mort.

Chien 71 (Signes discrets et passagers d'insuffisance rénale. Sacrifié au bout de sept jours). — Les reins présentent à la coupe un aspect macroscopique normal.

L'examen microscopique montre ici, en effet, un aspect tout différent de celui des reins précédents. Malgré l'administration d'une solution très concentrée d'hémoglobine, l'élimination du pigment s'est effectuée dans des conditions de rapidité surprenantes. On ne trouve guère de traces de pigment ni au niveau de la substance corticale ni au niveau

de la région intermédiaire, ni dans la zone papillaire du rein.

De loin en loin, on observe quelques restes de cylindres granuleux ou cellulaires qui renferment des enclaves pigmentaires, dont la plupart donnent une réaction du fer positive.

Les glomérules ont généralement une apparence normale. Par contre, il existe des signes histologiques de néphrite épithéliale qui prédominent très nettement dans la zone corticale du rein, le reste de l'organe étant beaucoup moins altéré. Ces lésions atteignent plus particulièrement les segments à bâtonnets (branches ascendantes de Henle), qui présentent des cellules gonflées, encombrées de mucine, avec des altérations mitochondriales graves (mitochondriolyse, hyposidérophilie, désorientation et fragmentation des bâtonnets). Ces cellules desquament parfois en masse.

Par contre, les segments à brosse et les segments intermédiaires de Schweiger-Seidel, tout en présentant des signes évidents de néphrite cytologique, sont relativement altérés.

En somme, on ne trouve pas de rétention pigmentaire, au septième jour, chez ce chien. L'hémoglobine a été rapidement éliminée, et les seules lésions que l'on observe sont des lésions de néphrite épithéliale, corticale, qui ont été déterminées vraisemblablement par le passage de l'hémoglobine, mais qui sont restées modérées et ne s'accompagnent pas des graves altérations qu'à entraînées, chez le chien précédent, la persistance de pigments dans les tubes urinaires.

Il résulte en définitive des examens histologiques précédents que l'importance des lésions rénales produites par les solutions d'hémoglobine à 14 p. 100, dépend essentiellement de la façon dont ces solutions sont éliminées. Le plus souvent, il se produit un encombrement dans les tubes urinaires du fait de la rétention du pigment et de la desquamation des cellules. Si cet encombrement est total, la mort survient par anurie. S'il n'est que partiel, on ne constate que

de l'oligurie. Mais, s'il se prolonge, la persistance de l'hémoglobine dans les tubes entraîne leur dégénérescence et provoque des lésions irritatives de néphrite interstitielle qui peut, selon son étendue, déterminer une urémie progressive et mortelle, ou une insuffisance rénale chronique. Lorsqu'au contraire l'hémoglobine est rapidement éliminée, on n'observe que des lésions de néphrite épithéliale très améliorables.

2° Examens histologiques du foie

Chien 62 (Mort en état d'anurie au bout de quatre jours).
— Le foie apparaît à l'œil nu de coloration un peu foncée.

Les conditions de prélèvement n'ont pas permis d'utiliser les techniques cytologiques nécessaires pour apprécier l'état des cellules. Mais on peut observer des phénomènes de congestion qui ont amené une stase sanguine des gros vaisseaux intrahépatiques et une distension importante des capillaires radiés du lobule. Le processus ne va pas toutefois jusqu'à la dislocation trabéculaire, sauf dans certaines plages, où il existe des hémorragies interstitielles en nappe, dues à la rupture des capillaires.

De plus, on note une légère réaction du système Kupfférien à caractère dispersé et sporadique.

Chien 77 (Mort au bout de huit jours en état d'urémie progressive avec oligurie). — L'aspect macroscopique est normal.

A l'examen microscopique, le foie présente une réaction très nette et étendue des cellules de Kupffer; mais en dehors de cela, il paraît normal. Le chondriome hépatique en particulier est intact. Il n'existe pas d'enclaves pigmentaires spontanément colorées et les très rares et très fins grains ferrugineux que l'on peut démasquer dans le foie ne sont pas plus fréquents que dans les foies normaux.

Chien 71 (Signes discrets et passagers d'insuffisance rénale. Sacrifié au bout de sept jours). — L'aspect macroscopique est normal.

A l'examen microscopique, le foie présente une réaction Kupfférienne parcellaire et légère.

Les cellules hépatiques ont pour la plupart un chondriome normal; mais, par places, et sans aucune systématisation définie, on rencontre des cellules de clarification, avec même quelques mitochondriolyses. Il s'agit, semble-t-il, de manifestations réactionnelles bien plutôt que d'altérations dégénératives; et en tout cas, elles ne sauraient compromettre le fonctionnement général de l'organe dans des proportions cliniquement appréciables.

Quelques cellules hépatiques renferment de fins granules de pigment jaune vert ne donnant pas la réaction du fer après démasquage. Ces enclaves ne se rencontrent pas ou rarement dans les cellules de Kupffer.

En résumé, seul le chien qui est mort d'anurie en quatre jours a présenté des altérations appréciables de son foie de type d'ailleurs surtout congestif. Il est à remarquer que les foies de ces animaux ne présentaient pas de surcharge pigmentaire importante.

3° Examens histologiques des poumons

Chien 62 (Mort d'anurie au bout de quatre jours). — Le poumon présente une réaction congestive intense et généralisée, accompagnée d'alvéolite avec desquamation alvéolaire modérée, et exsudats fibrineux alvéolaires abondants, mais peu chargés de cellules. Au niveau des bronches on observe une réaction très vive caractérisée par une congestion intense de la paroi et surtout de la muqueuse, avec exsudats bronchiques très chargés en cellules rondes.

Chien 77 (Mort au bout de dix jours en état d'urémie progressive avec oligurie). — Le poumon d'aspect macroscopique

pique à peu près normal, présente en réalité deux sortes de lésions :

1° Des lésions de réaction des parois alvéolaires du genre de celles qui ont déjà été décrites. Ces lésions sont intenses et étendues. Elles arrivent même à effacer la lumière d'un assez grand nombre d'alvéoles et à donner à l'organe un aspect hépatisé; cependant, la desquamation alvéolaire et l'infiltration intra-alvéolaire sont peu marquées.

2° Des foyers d'apoplexie pulmonaire qui se sont développés dans l'intérieur de ces parois alvéolaires épaissies, probablement dès les premiers temps du processus. Ces foyers sont constitués par des globules extravasés et laqués, et ils sont envahis par des cellules réactionnelles lympho-conjonctives avec quelques très rares polynucléaires. Des phénomènes de mutation du pigment sanguin résultant de l'hémolyse de ces globules rouges extravasés se voient sous forme de formations pigmentaires, les unes libres, les autres enclavées, et de la plus grande variété morphologique. C'est du pigment vert jaune, du pigment vert noir, du pigment jaune tatoué de noir, etc., pigments dont l'identification n'a pas pu être poussée très loin, mais dont on peut dire qu'ils ne donnent pas la réaction du fer après démasquage.

La présence de ces foyers interdit naturellement toute étude du pigment pulmonaire résultant éventuellement de l'hémoglobine exogène retenue par cet organe.

Chien 71 (Signes discrets et passagers d'insuffisance rénale. — Le poumon présente une association de plages saines ou à peine congestionnées et de zones, plus fréquentes et plus étendues, qui présentent des épaississements des parois alvéolaires par infiltration de cellules lympho-conjonctives.

La charge pigmentaire est modérée ou faible. Le pigment n'est représenté que par du pigment noir résistant aux décolorants et ne donnant pas la réaction du fer.

En résumé, alors que cliniquement rien n'avait attiré l'attention du côté de l'appareil respiratoire, l'examen histologique a permis de déceler dans tous les cas, mais avec une intensité variable, de l'épaississement des parois alvéolaires parfois fort important, et qui peut éventuellement s'accompagner de foyers d'apoplexie pulmonaire.

4° *Examen histologique de la rate*

Les faits dignes d'être observés dans cet organe sont à peu de chose près les mêmes dans les trois cas. D'une manière générale, il existe une forte réaction de la pulpe rouge, qui est bourrée de cellules. Il existe de nombreux érythrocytes souvent chargés de pigments jaunes diffus ou granuleux, dont les grains donnent ou non la réaction du fer. Au dixième jour, les enclaves ferrugineuses sont en très forte décroissance. Ce sont les grains de pigment vert (biliaire) qui dominent.

IV. — RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Il résulte des expériences précédentes que l'administration, par voie veineuse, à des chiens venant de subir une déperdition de sang variant selon les cas de 15 à 50 cc. par kilogramme de poids du corps, d'une quantité équivalente au même volume (dans le cas de saignée peu importante) ou à la moitié de ce volume (dans le cas de saignée plus forte), d'une solution à 14 p. 100 d'hémoglobine de cheval, filtrée ou non sur filtre Seitz, additionnée ou non d'une quantité suffisante de sels pour lui donner la même tonicité et la même composition minérale que le plasma sanguin de chien, paraît dans tous les cas très bien supportée par l'animal sur le moment, mais provoque constamment, dès les heures qui suivent, et quelles que soient les modalités d'expériences ci-dessus envisagées, des troubles, le plus souvent très importants, de l'appareil rénal.

L'hémoglobine ne paraît pas léser d'une manière importante les glomérules. Par contre, affluant dans les tubes urinaires, elle y détermine de graves altérations cellulaires : gonflement, dislocation et desquamation, et entraîne la formation de cylindres de divers types, qui encombrant la lumière de ces tubes, au tour desquels la congestion et l'œdème contribuent à aggraver la situation.

Dans les cas les plus sévères, il y a obstruction totale des tubes urinaires, et pour peu qu'elle se prolonge, la mort survient en quelques jours par anurie.

Dans d'autres cas, un nombre plus ou moins grand de tubes arrivent à éliminer leur hémoglobine et par leur lumière une certaine diurèse peut se rétablir. Mais, alors même que dans les urines ainsi excrétées, il n'y a plus d'hémoglobine, un nombre plus ou moins important de tubes urinaires restent bouchés par les cylindres ci-dessus décrits qui, en dépit de processus de résorption fort curieux du pigment, entretiennent les lésions et déterminent des foyers de néphrite tout autour.

Si le pourcentage des tubes obstrués est très élevé, l'oligurie persiste et s'accroît, et l'animal meurt d'urémie progressive liée à la production d'une néphrite interstitielle qui finit par détruire ou collaber même les tubes qui étaient restés ou redevenus perméables.

Si la rétention de l'hémoglobine est moins importante, la diurèse peut se rétablir d'une façon apparemment normale, mais une néphrite chronique plus ou moins améliorable se constitue.

Dans quelques cas, enfin, relativement rares, l'hémoglobine réussit à être éliminée rapidement et les divers tubes urinaires, bien que présentant des signes d'altération épithéliale liée au passage de cette substance, peuvent amener un fonctionnement satisfaisant, et d'autant plus que l'on n'observe plus ici, comme dans le cas précédent, de néphrite interstitielle surajoutée.

D'une manière générale, les néphrites provoquées par les

solutions d'hémoglobine à 14 p. 100 sont de type azotémique et s'accompagnent d'une rétention plus ou moins importante de déchets azotés. Elles ne donnent ni œdème, ni ascite. Il n'y a pas de rétention des chlorures, en dehors bien entendu des phases d'anurie ou d'oligurie. L'albuminurie reste minime après la fin de l'hémoglobinurie. La cylindrurie, par contre, persiste longtemps, ce qui traduit l'effort prolongé fait par le rein pour éliminer l'hémoglobine retenue dans son parenchyme.

Le foie n'est altéré que dans les cas d'urémie mortelle et montre surtout des signes de congestion.

Le poumon, par contre, présente constamment un processus réactionnel des parois alvéolaires.

Les examens de rate enfin montrent surtout une forte réaction cellulaire de la pulpe rouge, et une surcharge pigmentaire.

CHAPITRE IV

Etude toxicologique de l'hémoglobine en solution à 3,5 p. 100 administrée à dose thérapeutique, par voie intraveineuse, à des chiens ayant subi préalablement une saignée importante.

Suivant la technique opératoire antérieurement décrite, nous avons réalisé des injections de solutions d'hétéro ou d'homohémoglobine pure à une concentration de 3,5 p. 100 chez des chiens en état d'anémie expérimentale par saignée.

Comme dans le cas précédent, nos solutions furent préparées en moins de douze heures d'une manière rigoureusement aseptique, à partir de sang recueilli directement dans des flacons et avec un ajustage stériles à la jugulaire de chiens ou de chevaux normaux, à jeun depuis douze heures. Les solutions furent préparées dans les douze heures suivant le prélèvement et conservées à la glacière jusqu'au moment de l'emploi.

Nous exposerons d'abord, l'une après l'autre, les observations des neuf chiens expérimentés, puis nous analyserons les troubles fonctionnels occasionnés par ces solutions d'hémoglobine et enfin nous rapporterons les lésions histologiques observées au niveau de leurs différents organes.

I. — OBSERVATIONS

Au début des recherches poursuivies au laboratoire sur ce sujet, les solutions mères d'hémoglobine dans l'eau distillée furent étendues d'eau salée, de telle sorte que les

titres en hémoglobine et en Na Cl furent, en fin de préparation, respectivement de 3,5 p. 100 et de 9 p. 1.000. On pensait ainsi, *a priori*, obtenir des solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100, isotoniques avec le plasma sanguin de chien; mais en réalité, nos mesures ultérieures établirent que de telles préparations étaient hypertoniques vis-à-vis de ce milieu.

Les recherches qui suivirent furent conduites avec des solutions additionnées d'une quantité de Na Cl telle que le taux de la préparation correspondît à 4,5 p. 100, ce qui les rendait hypotoniques par rapport au plasma de chien.

Enfin, personnellement, nous nous sommes attachés, après notre étude sur les propriétés physico-chimiques et la composition minérale, respectivement des solutions d'hémoglobine et du plasma sanguin de chien, à rapprocher le plus possible ces milieux à ces deux points de vue. Nous ne pouvions, sans modifier sûrement la constitution de nos solutions, faire varier leur viscosité, leur pression osmotique colloïdale et leur tension superficielle. Mais nous avons du moins cherché à amener leur tonicité et leur teneur en sels minéraux aux taux que présentent ces valeurs dans le plasma.

De plus, le laboratoire ayant acquis entre temps un appareil de Seitz, nous avons pu régulièrement filtrer nos préparations d'hémoglobine sur filtre filtrant d'abord, sur filtre stérilisant ensuite.

En fonction de ce qui vient d'être exposé, nous grouperons nos observations en trois catégories, selon que les solutions d'hémoglobine utilisées furent hyper, hypo ou isotoniques au plasma sanguin.

1^{er} GROUPE. — *Observations de trois chiens ayant subi une saignée de 30 à 50 cc. de sang par kilogramme de poids du corps et, après celle-ci, une injection intraveineuse correspondant à la moitié du volume du sang enlevé d'une solution d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100, dans du sérum physiologique à 9 p. 1.000.*

Dans aucun cas les solutions employées dans ce groupe d'expériences ne furent filtrées sur filtre Seitz. Elles furent seulement, en fin de préparation, longuement centrifugées et décantées.

En vue d'examens histologiques, ces trois animaux furent respectivement sacrifiés au bout de un, huit et trente jours.

OBSERVATION XIV

Chien 31. — Poids 15 kilogrammes. Après avoir effectué les différents examens de sang et d'urines, on enleva à cet animal, en deux temps, séparés d'un quart d'heure, 410 cc. de sang, soit 30 cc. par kilogramme. Le chien, à la fin de la saignée, parût extrêmement abattu. Sa respiration était très superficielle, son œil vitreux. Il était sur le point de mourir; et alors que nous nous étions proposé de lui enlever 40 cc. de sang par kilogramme, nous avons dû arrêter la saignée.

Nous avons alors aussitôt injecté en une demi-heure 280 cc. d'une solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100, dans un sérum physiologique à 9 p. 1.000; solution non filtrée sur filtre Seitz. Très rapidement la respiration redevint plus ample, et l'animal se montra moins atone. Après la transfusion, cependant, il resta fort abattu toute la journée et refusa de manger et de boire.

Le lendemain, l'animal présentait une azotémie de 1 gr. 50. Il n'urina pas de toute la journée, ne prit rien et resta très prostré. On le sacrifia alors, au bout de vingt-quatre heures, en vue d'examens histologiques, et on trouva dans sa vessie 150 cc. d'urines, contenant 2 gr. 40 d'hémoglobine. Les reins étaient noirs.

En résumé, chez ce chien qui reçut de l'hémoglobine de

cheval à 3,5 p. 100, hypertonique et non filtrée, se produisit en vingt-quatre heures une forte azotémie avec oligurie. L'animal fut sacrifié à ce moment.

OBSERVATION XV

Chien 11 (d'après Sappey). — Après avoir fait les examens de sang et d'urines habituels, on enleva à ce chien, de 10 kg. 500, 470 cc. de sang, en trois fois, à une demi-heure d'intervalle, soit plus de 50 cc. par kilogramme. Le chien fut très abattu. La respiration était superficielle. Ses extrémités étaient froides. Son état parut très alarmant. On injecta aussitôt 225 cc. d'une solution d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100, dans du sérum physiologique à 9 p. 1.000, solution non filtrée sur Seitz. La respiration redevint rapidement plus ample, et l'animal reprit de la vigueur. Durant la journée, il fut cependant assez apathique et n'urina pas. Même suppression des urines le lendemain. Le surlendemain, le chien émit, vers 14 heures, 100 cc. d'urines ne contenant que des traces d'hémoglobine. L'animal qui avait refusé toute alimentation jusque-là mangea un peu.

Les quatrième et cinquième jours, il n'y eut encore aucune émission d'urines. Le sixième jour, le chien élimina 100 cc. d'urines ne contenant que des traces d'hémoglobine. Le septième et le huitième jours, l'animal n'urina pas. Il était de plus en plus prostré, avait beaucoup maigri et n'avait presque rien mangé depuis l'opération. On le sacrifia dans la journée du huitième jour.

En résumé, ce chien, qui a reçu une injection d'une solution d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100 dans du sérum physiologique à 9 p. 1.000, non filtré sur filtre Seitz, a présenté par la suite un état d'anurie à peu près complète, qui a persisté huit jours. On le sacrifia à ce moment.

OBSERVATION XVI

Chien 13 (d'après Sappey). — Après avoir pratiqué différentes analyses de sang et d'urines, on enleva à ce chien, du

poids de 20 kilogrammes, 1.000 cc. de sang en cinq fois, pendant un intervalle de temps de une heure trente. Il était alors profondément abattu; il présentait des mouvements respiratoires lents et superficiels, un pouls incomptable, des extrémités refroidies, une température rectale de 34°.

On injecta, en vingt minutes, 500 cc. d'une solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100, dans du sérum physiologique à 9 p. 1.000, non filtrée sur Seitz. La respiration redevint rapidement plus ample et plus rapide. Le pouls battait à 140. Après la transfusion, l'animal resta cependant apathique jusqu'au soir. A ce moment, il se montra un peu plus vigoureux et accepta de boire. Il n'urina pas.

Le lendemain, l'animal n'émit aucune urine; il resta assez atone et refusa de boire et de manger. L'urée sanguine était de 1 gr. 15.

Le troisième jour, l'urée sanguine était de 1 gr. 45. Au milieu de la journée, le chien urina pour la première fois depuis la transfusion et émit 350 cc. d'une urine contenant 1 gr. 32 p. 100 d'hémoglobine. Il but un peu, mais refusa de manger.

Le quatrième jour, le chien toujours très abattu, ne but ni ne mangea. Il n'émit que quelques cc. d'une urine exempte d'hémoglobine.

Le cinquième jour, l'animal n'urina pas. Il était très apathique et ne prit rien.

Le sixième jour, l'état s'améliora; le chien émit 300 cc. d'une urine claire, ne contenant pas d'hémoglobine.

Le septième jour, l'animal but et mangea avec appétit, il urina abondamment : l'urée sanguine était tombée à 0 gr. 42.

Par la suite, l'état du chien s'améliora régulièrement, la diurèse s'effectuant d'une façon sensiblement normale. Le taux de l'urée fut trouvé le neuvième jour de 0,38, le douzième jour de 0,60, le quatorzième jour de 0,32, le vingtième jour de 0,45.

L'animal fut sacrifié le trentième jour étant alors apparemment normal.

En résumé, ce chien, qui reçut une injection d'une solution d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100 dans du sérum physiologique, solution non filtrée sur Seitz a

présenté des troubles graves de la diurèse qui, pendant cinq jours, ne s'est effectuée que d'une manière excessivement restreinte; mais après cette période, le fonctionnement des reins s'est, apparemment, rapidement rétabli.

2^e GROUPE. — *Observations de deux chiens ayant subi une saignée de 40 cc. de sang par kilogramme de poids du corps et, après celle-ci, une injection en quantité correspondant à la moitié du sang enlevé d'une solution d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100, contenant 4,50 p. 1.000 de chlorure de sodium.*

Les expériences précédentes ayant en somme abouti à des troubles d'insuffisance rénale graves, rappelant ceux que nous avons observés avec les solutions d'hémoglobine à 14 p. 100, on a cherché à faire varier les facteurs, et tout d'abord à rendre les solutions à 3,5 p. 100 isotoniques avec le plasma sanguin. Mais une erreur de calcul aboutit à doter ces préparations d'une teneur en Na Cl de 4 gr. 50 p. 1.000, ce qui correspond en réalité à un titre de tonicité inférieur d'un tiers environ à celui du plasma sanguin.

Deux chiens ont été expérimentés ainsi, dont un avec une solution non filtrée sur Seitz (chien 90) et l'autre avec une solution filtrée (chien 9).

OBSERVATION XVII

Chien 30. — Poids 21 kilogrammes. Après avoir effectué différents examens de sang et d'urines qui ne révélèrent rien d'anormal, on saigna ce chien de 830 cc. en trois temps, séparés chacun d'une demi-heure : soit 40 cc. de sang par kilogramme. L'animal apparut profondément abattu; sa respiration était lente et superficielle et son pouls rapide (130 à la minute). On lui injecta alors, 430 cc. d'une solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100, contenant 4 gr. 50 de Cl Na p. 1.000, et non filtrée sur Seitz. La respiration s'amplifia dès le début et l'animal reprit un peu de vigueur. Il resta cependant très

apathique durant tout le cours de la journée, ne mangea ni ne but; il n'urina pas. Le lendemain, il paraissait un peu mieux; il marcha un peu et mangea sa soupe. Cependant, il n'urina toujours pas. Le taux d'urée sanguine à jeun était de 1 gr. 20.

Le surlendemain, l'animal était dans un état de prostration très prononcé; il n'émit encore aucune urine.

Le troisième jour, il urina pour la première fois 350 cc. d'urines, contenant un peu d'hémoglobine.

Le cinquième jour, le chien urina 1.750 cc. d'une urine contenant en tout 5 gr. 40 d'hémoglobine. Le taux de l'urée sanguine était alors de 0 gr. 35.

A partir de ce jour, l'animal se rétablit, urina régulièrement des volumes importants et mangea entièrement sa ration. On trouvera dans le tableau ci-dessous, les taux d'urée sanguine, observés pendant les onze premiers jours qui suivirent la transfusion. Ils redevinrent à peu près normaux à partir du sixième jour. Glycémie et cholestérolémie n'ont pas été modifiées.

	Normal	2 ^e jour	4 ^e jour	5 ^e jour	6 ^e jour	7 ^e jour	8 ^e jour	9 ^e jour	11 ^e jour
Urée . .	0,18	1,20	0,80	0,35	0,28	0,26	0,25	0,25	0,20

Les volumes urinaires émis furent respectivement les 4^e, 5^e, 6^e, 7^e et 8^e jours de : 350, 1.750, 740, 1.100, 1.800 cc. Le chien fut sacrifié au bout de dix jours, en vue d'examens histologiques.

En résumé, cet animal a présenté, après une injection d'hémoglobine à 3.5 p. 100 contenant 4.50 de chlorure de sodium p. 1.000 et non filtrée au Seitz, de l'anurie pendant trois jours pleins, puis, très rapidement, la diurèse se rétablit en même temps que le taux d'urée, qui était monté à 1.20, redevint normal.

OBSERVATION XVIII

Chien 9. — Poids 21 kilogrammes. Après avoir pratiqué divers examens de sang et d'urines, ainsi que les épreuves de la P. S. P., du rose bengale et de la galactosurie, on préleva en trois fois, à une demi-heure d'intervalle, 875 cc. de sang,

soit 40 cc. environ par kilogramme, puis on injecta en dix-sept minutes, 140 cc. d'une solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100, contenant 4 gr. 50 de Na Cl p. 1.000, et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Le chien, qui n'avait pas été très abattu par la saignée, se mit à courir dans la salle, aussitôt après la transfusion et se jeta sur sa soupe dès qu'on la lui présenta.

Le lendemain se trouvait dans son cristalliseur une urine fortement chargée en hémoglobine, émise durant la nuit. Ce jour-là, l'animal élimina, en deux fois, 1.750 cc. d'urines contenant en tout 9 gr. 17 d'hémoglobine. Dès le troisième jour, l'hémoglobinurie était terminée. Le chien resta en parfait état pendant les jours suivants, urinant normalement, mangeant régulièrement sa ration quotidienne, et se montrant parfaitement alerte. On pratiqua, à nouveau chez lui, les différents examens de sang et d'urine ainsi que les épreuves que l'on avait effectuées antérieurement sur lui. Les résultats sont consignés dans les tableaux ci-dessous. Ils montrent qu'en dehors de la présence de cylindres granuleux dans les urines, ces différentes analyses n'ont pu révéler rien de très anormal, ni en ce qui concerne le fonctionnement du rein ni en ce qui concerne celui du foie. Le chien fut sacrifié à fins d'examen histologiques au bout de quinze jours.

Urée sanguine

Avant	2 ^e jour	3 ^e jour	4 ^e jour	5 ^e jour	6 ^e jour	7 ^e jour	15 ^e jour
0,18	0,26	0,25	0,29	0,26	0,22	0,19	0,25

Urines

	Avant	2 ^e jour	4 ^e jour	5 ^e jour	8 ^e jour	15 ^e jour
Volume	1.500 cc	1.700	1.200	1.500	1.600	1.700
Albumine	0,02	6,70	0,30	0,15	0,10	0,10
Cylindres	0	+++	+++	+++	++	+
Hématies	0	+	+	+	+	+

Rose bengale

	Avant	7 jours après
5 minutes	4 milligrammes	3 milligrammes
15 minutes	1 milligramme	1 milligramme
30 minutes	0 milligramme	0 milligramme

P. S. P.

Avant
67 p. 100

7 jours après
66 p. 100

Galactosurie provoquée

AVANT			
	Vol.	Taux p. 1000	Q. élim.
2 heures	210 cc.	10	2 gr. 10
4 heures	30 cc.	5,10	0 gr. 15
10 heures	225 cc.	traces	0 gr.
24 heures	550 cc.	0	0 gr.
			2 gr. 25
7 JOURS APRÈS			
	Vol.	Taux p. 1000	Q. élim.
2 heures	265 cc.	7,90	2 gr. 10
4 heures	75 cc.	traces	0 gr.
10 heures	450 cc.	0	0 gr.
24 heures	400 cc.	0	0 gr.
			2 gr. 10

En résumé, ce chien, qui reçut une injection d'une solution d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100, contenant 4 gr. 50 p. 1.000 de Na Cl et filtrée sur filtre Seitz stérilisant, a éliminé très vite cette hémoglobine et n'a présenté aucun signe appréciable d'insuffisance rénale.

3^e GROUPE. — *Observations de quatre chiens ayant subi une saignée de 30 cc. de sang par kilogramme de poids du corps et, après celle-ci, une injection correspondant à la moitié du volume sanguin enlevé d'une solution d'hémoglobine de cheval ou de chien à 3,5 p. 100, filtrée sur filtre Seitz stérilisant, rendue isotonique au plasma sanguin de chien et contenant une quantité de sels minéraux identique à celle de ce milieu.*

Il paraissait résulter de l'expérience conduite chez les deux chiens précédents qu'à tonicité égale, la filtration sur filtre Seitz stérilisant pouvait avoir une grande importance,

puisqu'aussi bien le chien traité par l'hémoglobine non filtrée avait présenté une néphrite et l'autre, soumis à la solution filtrée, n'avait manifesté aucun trouble. L'observation de ce dernier animal semblait de plus démontrer que le fait que la solution fût hypotonique n'avait pas de sérieux inconvénients.

Nous nous sommes alors attachés à expérimenter des préparations rigoureusement filtrées sur Seitz, et par ailleurs rendues isotoniques au plasma sanguin de chien et de même composition minérale que ce dernier.

Toutefois, nous avons tenu à utiliser ainsi deux hémoglobines différentes, l'une ayant été obtenue à partir du sang de cheval, l'autre à partir du sang de chien.

a) *Expériences conduites avec de l'hémoglobine de cheval*

Nous rappelons que la composition d'une telle hémoglobine est la suivante :

Dt	0,58	Ca	0,109
Tension superf.	70-72	P ² O ⁵	0,112
Viscosité	0,0075-0,0079	K.	0,43
Densité	1,015-1,018	Na	3,55-3,60
P. O. C.	20-25	Cl	5,40-5,50

Nous avons expérimenté dans ces conditions deux chiens.

OBSERVATION XIX

Chien 76. — Poids 12 kil. 500. Les différents examens de sang et d'urines ayant été effectués, on préleva le 28 mars 1938, à cet animal, 450 cc. de sang, en vingt-cinq minutes, soit 30 cc. par kilogramme. Le chien, très turbulent, à l'état normal, était très apathique à la fin de la saignée. On lui injecta alors 225 cc. d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100, isotonique, au plasma sanguin de chien, de même composition minérale que ce milieu, et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Le rythme respiratoire, qui était très accéléré, se ralentit, se régularisa, et les mouvements s'amplifièrent rapidement. Mis à terre, le chien se comporta comme un chien normal et mangea peu après sa

soupe. Il n'urina pas cependant au cours de toute la journée.

Le lendemain, 29 octobre, il émit, en trois fois, près de 1.700 cc. d'une urine contenant de l'hémoglobine. Le chien était d'aspect tout à fait normal; il mangea sa ration quotidienne avec avidité. L'hémoglobinurie cessa dès le troisième jour. Le chien ne présenta d'ailleurs par la suite aucun symptôme pathologique et comme on peut le voir par les résultats des examens inscrits aux tableaux ci-dessous, il ne fut atteint que de troubles des fonctions rénales, apparemment très légers, puisqu'on ne releva comme anomalie qu'une petite poussée d'azotémie au bout de la deuxième semaine, une légère augmentation de l'albumine urinaire durant quelques jours, après la fin de l'hémoglobinurie, et de la cylindrurie transitoire.

Dosage d'urée dans le sang

Temps	Urée	Temps	Urée	Temps	Urée
Normal	0,20	2 ^e jour	0,25	2 ^e semaine	0,50
Après saignée	0,30	3 ^e jour	0,25	3 ^e semaine	0,30
Après injection	0,32	4 ^e jour	0,25	4 ^e semaine	0,30
Deux heures après ..	0,45	6 ^e jour	0,35	5 ^e semaine	0,32
Quatre heures après.	0,42			6 ^e semaine	0,28
Six heures après ...	0,45			7 ^e semaine	0,32
Huit heures après ..	0,30				

Examen des urines

	Vol.	HbO	Alb.	Prob.	Pig. bil.	Examen microsc.
Normal	1250 cc.	0 %	0,04	0	0	Normal
Lendemain ...	820 cc.	0,4 %		0	0	Hémat. Cyl.
Lendemain ...	400 cc.	0,2 %		0	0	Hémat. Cyl.
Lendemain ...	490 cc.	0,05 %		0	0	Hémat. Cyl.
3 ^e jour	500 cc.	0	0,10	+	0	Hémat. Cyl.
4 ^e jour	930 cc.	0	0,15	0	0	Hémat.
7 ^e jour	1100 cc.	0	0,15	0	0	Hémat.
2 ^e semaine ...	920 cc.	0	0,06	0	0	Normal

En résumé, après avoir subi une saignée, puis une transfusion de solution d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, ayant la même composition minérale et filtrée sur filtre Seitz stérilisant, cet animal ne paraît avoir présenté que des signes bien discrets d'insuffisance rénale.

OBSERVATION XX

Chien 73. — Poids 20 kilogrammes. Chez ce chien nous avons poussé l'exploration fonctionnelle du foie et des reins beaucoup plus loin que chez l'animal précédent, d'ailleurs traité de la même façon.

Après avoir pratiqué chez cet animal les différents examens de sang et d'urines ainsi que les épreuves de la phénol-sulfone-phtaléine, du rose bengale et de la galactosurie provoquée, on lui enleva, le 16 octobre 1938, en trois temps, à quinze minutes d'intervalle, 420 cc. de sang, soit 30 cc. par kilogramme. Le chien ne parut pas très fatigué par cette saignée. On lui injecta ensuite, en vingt minutes, 210 cc. d'une solution, filtrée sur chiffre Seitz stérilisant, d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100, isotonique, au plasma sanguin de chien et de même composition minérale. La respiration s'amplifia aussitôt et l'animal manifesta un regain de vigueur. Mis à terre, il présenta une allure normale. Trois heures après l'injection d'hémoglobine, le chien urina 270 cc. d'une urine fortement colorée en rouge. Il urina encore, à la fin de l'après-midi.

Les jours suivants, le chien ne manifesta aucun phénomène pathologique. La diurèse resta cependant un peu diminuée pendant deux jours, puis redevint à peu près normale. L'animal fut sacrifié le septième jour, en vue d'examens histologiques.

On trouvera dans les tableaux ci-dessous, les résultats des différents examens et épreuves fonctionnelles qui ont été faits chez ce chien et qui, exception faite de la présence de cylindres granuleux dans les urines et d'une légère augmentation du taux de l'albuminurie durant les jours suivant la fin de l'hémoglobinurie, ne révélèrent rien de très anormal. Le taux de l'urée ne s'est pas élevé; l'élimination de la P. S. P. est restée la même; l'épreuve du galactose ne montra qu'une légère opsiurie; l'épreuve du rose bengale fut normale.

Dosages d'urée dans le sang

Temps.		Temps.	
Normal	0,41	Deuxième jour	0,48
Après saignée	0,50	Quatrième jour	0,37
Après injection	0,46	Sixième jour	0,40
Six heures après	0,45	Septième jour	0,40

Examens des urines

	Volume	HbO	Urobiline	Hématies	Cylindres
1 ^{er} jour	210 cc.	1,8 %	0	+	hématicques.
1 ^{er} jour	85 cc.	1 %	0	+	hématicques.
2 ^e jour	560 cc.	0	0	+	granuleux.
3 ^e jour	680 cc.	0	+	+	granuleux.
4 ^e jour	1040 cc.	0	+	+	granuleux.
5 ^e jour	1100 cc.	0	0	+	granuleux.
6 ^e jour	1200 cc.	0	0	+	rare.

Epreuves fonctionnelles

	Avant	6 j. après
Constante Ambard	0,08	0,03
P. S. P.	72 p. 100	66 p. 100

	Avant	5 jours après
Rose bengale :		
5 minutes	6 milligrammes	10 milligrammes
15 minutes	1 milligramme	2 milligrammes
30 minutes	0 milligramme	0 milligramme

Galactosurie provoquée :

AVANT			
	Vol.	Taux p. 1000	Qu. élim.
2 heures	250 cc.	15	3 gr. 75
4 heures	30 cc.	11,2	0 gr. 33
10 heures	1250 cc.	0	0 gr.
24 heures	600 cc.	0	0 gr.
			4 gr. 08
APRÈS			
	Vol.	Taux p. 1000	Qu. élim.
2 heures	175 cc.	21,4	3 gr. 74
4 heures	40 cc.	10	0 gr. 40
10 heures	105 cc.	1,1	0 gr. 11
24 heures	750 cc.	0	0 gr.
			4 gr. 25

En résumé, chez un chien ayant subi, après saignée, l'injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale, et filtrée sur filtre Seitz stérilisant, on n'observa que des troubles légers de la diurèse

avec cylindrurie sans autres symptômes appréciables de déficience rénale. L'exploration fonctionnelle du foie ne révéla rien d'anormal.

b) *Expériences conduites avec de l'hémoglobine de chien*

Les deux expériences précédentes parurent montrer que l'hémoglobine de cheval peut être atoxique pour le chien, pour peu que la solution en soit convenablement préparée. Nous avons voulu voir si, dans les mêmes conditions, l'hémoglobine de chien ne serait pas encore mieux supportée. Les deux expériences suivantes devaient, en réalité, nous amener à une certaine prudence dans l'appréciation de la valeur toxique des solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100.

Nous rappelons que la constitution des solutions optima d'hémoglobine de chien à 3,5 p. 100, isotonique avec le plasma sanguin de chien, et de même composition minérale que lui est la suivante :

Dt	0,58	Ca	0,109
Tension superf.	70-72	P ² O ⁵	0,112
Viscosité	0,0075-0,0079	K.	0,43
Densité	1,015-1,018	Na	3,55-3,60
P. O. C.	20-25	Cl	5,40-5,50

OBSERVATION XXI

Chien 79. — Poids, 17 kg. 800. Après avoir effectué différents examens de sang et d'urines, on pratiqua chez cet animal une saignée de 530 cc. de sang en une heure quinze. L'opération fut en effet longue et pénible par suite d'incidents d'hémostase au niveau de la veine fémorale dénudée. L'animal, après cette saignée, apparut d'ailleurs assez fatigué. On lui injecta alors 265 cc. d'hémoglobine de chien à 3,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Après la transfusion, l'animal resta abattu, refusant d'abord de manger sa soupe dont il ne prit qu'une faible partie dans le courant de la journée. Il n'urina pas pendant trente heures. Au bout de ce temps, il émit

en une fois 540 cc. d'une urine contenant 0,2 p. 100 d'hémoglobine.

Le lendemain, l'animal n'émit encore que 430 cc. d'une urine sans hémoglobine.

A partir du surlendemain (10 novembre), la diurèse se rétablit; le chien, qui resta apathique et assez anorexique durant les premiers jours, reprit ensuite rapidement son entrain et son appétit. Il fut utilisé ultérieurement pour d'autres expériences.

On trouvera dans le tableau ci-dessous les résultats des divers examens pratiqués chez ce chien.

Dosages d'urée dans le sang

Temps	Urée	Temps	Urée	Temps	Urée
Normal	0,30	2 ^e jour	0,50	2 ^e semaine	0,45
Après saignée	0,35	3 ^e jour	1,10	3 ^e semaine	0,30
Après injection	0,30	5 ^e jour	1,05	4 ^e semaine	0,20
Deux heures après . .	0,30	6 ^e jour	0,85	5 ^e semaine	0,24
Quatre heures après .	0,30	11 ^e jour	0,95	6 ^e semaine	0,22
Six heures après . .	0,40			7 ^e semaine	0,27
Huit heures après . .	0,40				

Examen des urines

	Vol.	HbO	Alb.	Trob.	Pig. bil.	Examen microscopique
2 ^e jour . . .	540 cc.	0,2 ‰		0	0	Nomb. hém. cyl.
3 ^e jour . . .	430 cc.	0	0,12	+	0	Nomb. déb. hém. cylindres.
4 ^e jour . . .	950 cc.	0	0,06	0	0	Cylindres gran.
5 ^e jour . . .	1200 cc.	0	0,04	0	0	Cylindres gran.
6 ^e jour . . .	1000 cc.	0	0,04	0	0	Q/q cyl. gran.

On note l'élévation de l'urée sanguine ainsi que la présence de nombreux cylindres granuleux.

En résumé, cet animal, après avoir subi une transfusion d'hémoglobine de cheval à 3.5 p. 100, isotonique, au plasma sanguin de chien, de même composition minérale et filtrée, sur filtre Seitz stérilisant, a présenté pendant les jours suivants une diminution de la diurèse, ainsi que des signes de néphrite azotémique qui ont disparu par la suite.

OBSERVATION XXII

Chien 72. — Nous avons poussé l'exploration fonctionnelle du foie et des reins plus loin chez cet animal que chez le chien précédent.

Les divers examens pratiqués à deux reprises, avant toute expérimentation, montrèrent d'ailleurs qu'il n'était pas alors absolument normal. On trouva en effet une élimination de la P. S. P. qui ne dépassa pas 55 p. 100 de la dose injectée, une constante d'Ambard aux environs de 0,14 et une épreuve de galactosurie montrant une diurèse retardée, mais une élimination du galactose normale. Le rose bengale disparut du sang moins rapidement que chez les sujets sains. Cependant différents dosages effectués dans le sang et dans les urines ne donnèrent pas de résultats franchement pathologiques et c'est la raison pour laquelle, faute d'autres sujets, nous avons utilisé celui-là.

Le 16 novembre 1938, on enleva donc à ce chien 600 cc. de sang en trente-cinq minutes, soit 30 cc. par kilogramme. L'animal fut très abattu par cette saignée. Il respirait faiblement et par saccades. On lui injecta alors 300 cc. d'une solution d'hémoglobine de chien à 3,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale et stérilisée sur filtre Seitz stérilisant. L'état de l'animal s'améliora très rapidement; la respiration devint plus profonde et plus régulière et, lorsque le chien fut mis à terre, il ne parut pas très fatigué quoiqu'il se montra peu vigoureux. Il ne mangea pas sa soupe, mais vers le soir il but un peu de bouillon, qu'il vomit d'ailleurs peu après. Il émit 400 cc. d'urines chargées d'hémoglobine.

Dans la nuit, le chien urina 970 cc. d'urines légèrement teintées en rouge. Le lendemain, il était beaucoup plus vigoureux. Il urina à nouveau dans la journée et, les jours suivants, il présenta une diurèse à peu près normale, ainsi qu'on peut s'en rendre compte par le tableau ci-joint. L'animal présenta par la suite un aspect général excellent, mangeant régulièrement sa ration quotidienne et se comportant comme un chien normal.

Cependant, les nombreuses analyses et épreuves effectuées

sur lui montrèrent que l'injection d'hémoglobine avait déterminé une néphrite azotémique. Celle-ci persiste actuellement depuis plus de trois mois. Elle est caractérisée par une élévation dans le sang du taux des polypeptides, de l'azote aminé, de l'azote résiduel, de la créatinine, et dans les urines par une augmentation de l'albuminurie, de l'azote résiduel, et en outre par l'apparition de cylindres et d'hématies. De plus, on constate une diminution de l'élimination de la P. S. P. qui est tombée de 55 à 28 p. 100, une augmentation de la constante d'Ambard qui est passée de 0,14 à 0,33. L'épreuve de la diurèse montre que celle-ci est encore plus retardée qu'avant l'expérience. Par contre, les épreuves du rose bengale et de la galactosurie provoquée donnent des résultats plus satisfaisants qu'avant la transfusion; et les différentes analyses de sang et d'urines ne montrent aucun signe d'insuffisance du foie : pas d'urobilinurie, pas de modification de la fibrinémie, de la cholestérolémie, de la lipémie, de la bilirubinémie. Le rapport sérine/globuline, qui est habituellement abaissé dans les hépatites toxiques chez le chien, se trouve ici au contraire considérablement augmenté, ainsi d'ailleurs que nous l'avons antérieurement constaté chez les chiens atteints de néphrite après injection d'hémoglobine à 14 p. 100. Nous reviendrons sur ce phénomène.

Voici tout d'abord les résultats des dosages d'urée successifs effectués chez cet animal :

Dosages d'urée sanguine

Normal	0,40	Quatrième jour	1,30
Après saignée	0,45	Sixième jour	1,20
Après injection	0,55	Neuvième jour	1,35
Deux heures après	0,50	Deuxième semaine	1,25
Quatre heures après	0,60	Troisième semaine	1,05
Six heures après	0,80	Quatrième semaine	0,95
Huit heures après	0,80	Cinquième semaine	1,10
Deuxième jour	1,55	Sixième semaine	1,05
Troisième jour	1,50	Douzième semaine	1,52

Voici maintenant les taux de la diurèse pendant les premiers jours suivant l'injection d'hémoglobine :

Analyses d'urines

	Vol.	HbO	Pig. bil.	Examen microscopique
Avant	1750 cc.	0	0	Normal
Premier jour	400 cc.	0,4	0	Hémat.-Cylind.
Deuxième jour	1450 cc.	traces	traces	Hémat.-Cylind.
Troisième jour	2930 cc.	0	0	Cylindres
Quatrième jour	2530 cc.	0	0	Cylindres
Cinquième jour	2180 cc.	0	0	Cylindres
Sixième jour	1970 cc.	0	0	Cylindres

On trouvera ci-dessous les résultats des examens de sang et d'urines pratiqués avant et trois mois après l'injection d'hémoglobine.

Examen de sang

	Avant	Trois mois après
Urée	0,41	1,52
Protéines totales	67,6	40,7
Serine	34,7	28,1
Globuline	32,9	12,6
Rap. Ser./Glob.	1,05	2,73
Polypeptides	0,027	0,032
Ac. amin. + NH ³	0,047	0,055
Acide urique	0,010	0,013
N. non protéique	0,29	1,25
N. résiduel.	0,10	0,55
Fibrine	7,50	6,50
Créatine	traces	traces
Créatinine	0,18	0,22
Cholestérol	1,85	1,80
Lipémie	6,6	7
Bilirubine	0	0
Cl. total	2,89	2,80
Cl. plasmatique	3,64	3,15
Cl. globulaire	2,01	2,12
Rap. Cl. Gl./Pl.	0,55	0,67

Examen des urines

	Avant	Trois mois après
Glucose	0	0
Albumine	0,07	0,70
Acétone	0	0
Urobiline	0	0
Pigments biliaires	0	0

	Avant	Trois mois après
Sels biliaires	0	0
Albumoses	0	0
Indican	0	0
Scatol	0	0
Urée	6,4	12,8
Chlorures	4,1	7,2
Coef. de Maillard	0,05	0,06
N. résiduel	1,05	1,45
Polypeptides	0	0
Ac. aminés + NH ³	0,25	0,55
N. non protéique	4,05	7,4
Acide urique	0,15	0,15
Créatine	traces	traces
Créatinine	0,10	0,22
Cylindres	0	pres.

Voici enfin les résultats des épreuves fonctionnelles également pratiquées avant et trois mois après l'expérience.

a) *Elimination de P. S. P.*

Avant	Trois mois après
55 p. 100	28 p. 100

b) *Constante d'Ambard*

Avant	Trois mois après
0,14	0,33

c) *Epreuve du rose bengale*

	Avant	Trois mois après
5 minutes	12 milligrammes	8 milligrammes
15 minutes	5 milligrammes	2 milligrammes
30 minutes	2 milligrammes	0 milligramme

d) *Epreuve de la galactosurie provoquée*

	AVANT		
	Vol.	Taux p. 1000	Q. élim.
2 heures	150 cc.	10,75	1 gr. 61
4 heures	90 cc.	7,5	0 gr. 67
10 heures	860 cc.	0	0 gr.
24 heures	1800 cc.	0	0 gr.
			2 gr 28

TROIS MOIS APRÈS			
	Vol.	Taux p. 1000	Q. élim.
2 heures	100 cc.	16,5	1 gr. 65
4 heures	70 cc.	traces	0 gr.
10 heures	210 cc.	0	0 gr.
24 heures	500 cc.	0	0 gr.
			1 gr. 65

En résumé, chez un chien présentant de très légers troubles fonctionnels des reins, l'injection d'hémoglobine de chien à 3,5 p. 100, isotonique, au plasma sanguin de chien, de même composition minérale que lui, et filtrée sur filtre Seitz stérilisant, a provoqué une néphrite azotémique qui, au bout de trois mois, se présente encore avec des signes très importants.

II. — ANALYSE DES TROUBLES FONCTIONNELS PROVOQUÉS PAR LES SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE A 3,5 P. 100 ADMINISTRÉES A DOSE THÉRAPEUTHIQUE, EN INJECTIONS INTRA VEINEUSES, A DES CHIENS AYANT SUBI PRÉALABLEMENT UNE FORTE SAIGNÉE.

D'une manière générale, les seuls accidents qui aient été observés après injection de solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100 ont été, comme dans les cas des solutions d'hémoglobine à 14 p. 100, des accidents d'insuffisance rénale.

Il faut remarquer cependant que, sauf peut-être dans le cas du chien 11 (observation XV) qui présenta pendant sept jours une anurie presque totale, nous n'avons pas observé les cas de suppression complète des urines entraînant la mort en deux à cinq jours, comme nous les avons vus se produire chez trois de nos huit chiens traités par des injections d'hémoglobine à 14 p. 100.

De plus, tandis que dans tous les cas où nous avons injecté des solutions à 14 p. 100 nous avons vu cliniquement apparaître des signes de néphrite, les résultats furent ici beaucoup plus irréguliers.

Certains de nos chiens, tels que les chiens 9 (observa-

tion XVIII), 73 (observation XX), 76 (observation XIX) n'ont manifesté aucun trouble ou seulement des symptômes très discrets; d'autres, tels que les chiens 11 (observation XV), 13 (observation XVI), 30 (observation XVII), 72 (observation XXII), 79 (observation XXI), au contraire, ont présenté des symptômes de néphrite plus ou moins graves.

Il y a lieu naturellement de se demander quelles furent les raisons de ces différences. Or, nous avons opéré dans des conditions qui ont assez varié pour que nous puissions éliminer un certain nombre d'hypothèses. L'importance de la saignée préalable, sa rapidité, le temps qui s'est écoulé entre la fin de la saignée et le début de l'injection d'hémoglobine, la vitesse plus ou moins grande avec laquelle cette injection a été faite, du moins dans les limites de temps que nous avons observées, ne paraissent avoir joué aucun rôle à cet égard.

Un facteur plus important semble être la filtration des solutions. Sur neuf chiens traités par des solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100, quatre reçurent des préparations non filtrées (11, observation XV; 13, observation XVI; 31, observation XIV; 30, observation XVII) et tous les quatre présentèrent une néphrite; cinq furent soumis à des injections de solutions filtrées sur filtre Seitz stérilisant (9, observation XVIII; 76, observation XIX; 73, observation XX; 79, observation XXI; 72, observation XXII), et deux seulement (79, observation XXI; 72, observation XXII) manifestèrent des troubles de leurs fonctions rénales. L'observation de ces deux derniers chiens montre évidemment que la purification de la solution par une filtration très serrée ne suffit pas à en assurer l'innocuité. Elle peut du moins y contribuer pour une part.

Il semble que l'isotonicité vis-à-vis du plasma de sang de chien et l'ajustement de la composition minérale des solutions à celle de ce dernier milieu puissent exercer également une influence secondaire du même ordre. A ne

considérer que les expériences que nous avons effectuées avec l'hémoglobine de cheval, cette influence paraît évidente. Sur les trois chiens traités par de l'hémoglobine hypertonique par rapport au plasma sanguin de chien (11, observation XV; 13, observation XVI; 31, observation XIV), trois ont présenté de la néphrite. Sur deux chiens ayant reçu de l'hémoglobine hypotonique (9, observation XVIII; et 30, observation XVII), un seul a fait une néphrite d'ailleurs mortelle. Sur deux chiens soumis à des injections d'hémoglobine isotonique (73, observation XX; 76, observation XIX), aucun n'a manifesté de troubles importants. La même constatation pourrait être faite en ce qui concerne l'ajustement de la composition minérale, puisque seuls ces deux derniers animaux ont été traités par des préparations ainsi constituées. Mais nous avons aussi soumis deux autres chiens (79, observation XXI; 72, observation XXII) à des solutions d'homohémoglobine isotonique et de composition minérale rigoureusement analogue à celle du plasma sanguin de chien, et ces deux animaux ont présenté une néphrite grave.

On pourrait être tenté d'induire de ces résultats que l'hémoglobine de chien est plus toxique que l'hémoglobine de cheval pour le chien, au taux de concentration de 3,5 p. 100. *A priori*, cela heurte le bon sens. Il semble plus rationnel de penser qu'il ne s'agit là que de différences dues à d'autres causes et que, si nos expériences avaient porté sur un bien plus grand nombre d'animaux, des accidents du même ordre eussent été sans doute éventuellement observés aussi bien avec les solutions d'hémoglobine de cheval qu'avec les solutions d'hémoglobine de chien, préparées dans des conditions optima rigoureusement identiques.

Ici, comme pour les chiens ayant reçu de l'hémoglobine à 14 p. 100, un facteur important de la toxicité de la solution tient à l'état antérieur de l'animal. Le fait est particulièrement net dans le cas du chien 72 (observation XXII) qui, avant toute expérimentation, présentait déjà quelques signes

légers d'insuffisance rénale, révélés seulement par les épreuves de la P. S. P. et de la diurèse provoquée. L'injection d'une même solution d'homohémoglobine à 3,5 p. 100 a provoqué chez cet animal une néphrite persistante, alors qu'administrée dans les mêmes conditions à un autre chien (79, observation XXI) elle ne détermina que des troubles fonctionnels passagers, qui disparurent au bout de dix jours.

En résumé, il semble que l'on puisse conclure de ces remarques que les solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100, qu'elles soient faites avec du sang de chien ou de cheval, sont dans l'ensemble moins nocives que les solutions à 14 p. 100. L'isotonicité, l'ajustement de leur état de minéralisation à des taux voisins de celui du plasma normal, leur purification surtout par filtration sur filtre Seitz stérilisant, paraissent dans une certaine mesure diminuer leur toxicité, mais ne suffisent pas toujours à la supprimer; et selon que les solutions sont administrées à des chiens de sensibilité différente, elles peuvent ou non déterminer des perturbations plus ou moins grandes de la sécrétion rénale.

Les troubles sont du même ordre, quoiqu'en général moins intenses, que ceux que nous avons observés avec les solutions d'hémoglobine à 14 p. 100. Ici encore, il s'agit d'un encombrement des tubes urinaires altérés, d'où la suppression ou la diminution momentanée de la diurèse et la possibilité de constituer des néphrites passagères ou durables. Ces néphrites, comme celles qui surviennent après l'administration des concentrations fortes, sont de type azotémique, avec augmentation du taux de l'urée sanguine, du taux de l'azote résiduel, dans le sang et dans les urines, de la polypeptidémie, de l'ammoniémie, de la créatininémie. En un mot, il y a rétention de tous les déchets azotés non protéiques.

Par contre, les animaux ne présentent ni œdème, ni ascite, ni troubles de l'élimination des chlorures et de l'urée, du moins lorsque la diurèse est rétablie. L'excrétion d'albu-

mine par les reins reste également à peine augmentée.

Les formes mortelles semblent beaucoup plus exceptionnelles qu'avec les solutions à 14 p. 100. En général, il s'agit de formes moyennes avec oligurie momentanée et néphrite persistante, et le plus souvent encore de poussées de néphrites discrètes et passagères. Enfin, rappelons que dans trois cas sur neuf, les solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100 n'ont pour ainsi dire déterminé aucun trouble apparent de l'appareil rénal, en dehors d'une hémoglobinurie rapide et brève et d'une légère cylindrurie la prolongeant quelques jours.

Quant au foie, dans tous les cas où nous en avons fait l'exploration fonctionnelle, nous n'avons jamais pu déceler le moindre signe d'insuffisance, même lorsqu'il existait une néphrite importante. L'épreuve du rose bengale et de la galactosurie ont toujours donné des résultats normaux et nous n'avons pas observé d'augmentation de la bilirubinémie, de la lipémie, du cholestérol sanguin, ni d'abaissement de la fibrinémie. La présence éventuelle d'urobiline et de pigments biliaires dans les urines relève, semble-t-il, non d'une insuffisance hépatique, mais d'une biligénie locale intrarénale, comme nous le verrons à propos de l'histophysiologie de l'élimination d'hémoglobine par le rein.

Comme dans le cas des solutions à 14 p. 100, la néphrite s'accompagne ici d'une élévation du rapport sérine/globuline. Nous reviendrons sur ce point. Les taux des chlores sanguins ne sont pas modifiés.

III. — ETUDE HISTOLOGIQUE DES DIFFÉRENTS ORGANES DES CHIENS AYANT SUBI, APRÈS SAIGNÉE, UNE INJECTION INTRA-VEINEUSE A DOSE THÉRAPEUTIQUE DE SOLUTION D'OXYHÉMOGLOBINE A 3,5 P. 100.

Nous avons vu dans le paragraphe précédent que certains chiens ont présenté des processus de néphrite évi-

dente, et que d'autres, au contraire, ont paru peu atteints.

Nos examens histologiques ont dès lors porté plus spécialement chez deux animaux de la première catégorie, les chiens 31 (Observation XIV) et 13 (Observation XVI), sacrifiés respectivement le premier et le trentième jours, et chez deux autres animaux de la deuxième catégorie, les chiens 73 (Observation XX) et 9 (Observation XVIII), sacrifiés le septième et le quinzième jours.

Comme dans le cas des chiens soumis à des injections d'hémoglobine à 14 p. 100, nous relaterons les lésions observées organe par organe, et pour chaque organe chien par chien.

1° *Examen des reins*

a) *Groupe des chiens ayant présenté des signes évidents de néphrite :*

Chien 31 (Observation XIV). — Sacrifié au bout de vingt-quatre heures.

Les lésions observées sont très loin d'être aussi importantes que celles que nous avons décrites dans les reins d'animaux ayant subi une injection d'hémoglobine à 4 p. 100 et examinées également très peu de temps après l'injection.

On ne voit pas ici des images en rapport avec un blocage complet des tubes urinaires, comme chez les chiens précédents morts en état d'anurie.

Cependant, il existe tout de même une néphrite épithéliale aiguë typique diffuse (microphoto III).

Les lésions intéressent les divers segments du tube urinaire avec des différences d'intensité dans des points très voisins.

Elles consistent, soit en des troubles encore légers : fragmentation et essaimage des bâtonnets et autres chondriosomes, disparition ou effacement de la brosse, hyposidéro-

phie des chondriosomes, mitochondriolyses; soit en des altérations plus graves : telles qu'émission de boules sarco-diques, décapitations cellulaires ou même desquamation partielle ou totale des tubes.

On trouve de nombreux cylindres homogènes ou granuleux dans les divers segments des tubes urinaires, avec prédominance cependant dans les pyramides de Ferrein et dans les pyramides de Malpighi (tubes collecteurs et branches ascendantes de l'anse de Henle (microphoto VII).

Les glomérules paraissent peu touchés. Cependant, au niveau de quelques-uns d'entre eux, on observe, en abondance variable, des exsudats homogènes, diffus ou organisés en sphérules de petite taille. On ne voit pas de desquamations ni de proliférations des épithéliums glomérulaires; éventuellement on peut reconnaître de rares globules rouges extravasés. Mais un grand nombre de ces organes ne présentent aucune altération morphologiquement décelable.

L'emploi de la méthode au cyanol a permis à ce stade de faire des constatations intéressantes susceptibles d'éclairer le problème de l'élimination de l'hémoglobine. Nous y reviendrons ultérieurement.

Chien 13 (Observation XVI). — Sacrifié au bout d'un mois.

Ce chien présente des traces de néphrite épithéliale modérée mais évidente, encore en évolution, qui se traduisent au niveau des tubes contournés par une disparition de la brosse et dans un assez grand nombre de tubes par des altérations diverses du chondriome et des émissions de boules sarcodiques.

De plus, on rencontre encore des cylindres, assez rares d'ailleurs, au voisinage du sommet des pyramides de Malpighi surtout et parfois dans le labyrinthe.

Par endroits, on observe de loin en loin et isolés, des tubes élargis, pourvus ou non de cylindres à épithélium entièrement desquamé, ce qui est rare, ou largement abrasé, ce qui est plus fréquent.

En plus de ces lésions diffuses et récentes ou encore en évolution, il en existe de plus localisées et plus anciennes, siégeant sous forme de plages petites, dispersées, peu nombreuses, irrégulières, sous capsulaires, où l'on trouve, au sein d'un tissu conjonctif épaissi, des tubes collabés ou au contraire anormalement élargis (microphoto XIII).

En dehors de quelques exceptions fort peu nombreuses, les glomérules paraissent intacts. On ne trouve pas de traces d'exsudats glomérulaires, colorables ou non par le cyanol.

Dans certaines cellules des tubes urinaires et dans des endroits variés de leur parcours, on rencontre quelques grains de pigment jaune d'or, mais ces images sont à ce stade trop peu nombreuses pour que l'on puisse en tirer une signification utile.

Il est sans doute difficile de comparer cet état avec celui qui a été décrit sur le chien 31, sacrifié au bout de vingt-quatre heures, après avoir reçu une quantité analogue d'hémoglobine à une concentration égale. Nous ne savons évidemment pas comment aurait évolué la néphrite de cet animal. Cependant, le chien 13 a présenté initialement des troubles assez analogues à ceux que l'on a observé chez le chien 31, troubles qui se sont améliorés secondairement.

L'étude histo-pathologique du rein de cet animal montre en effet des lésions consolidées, sporadiques et irrégulières, d'une néphrite répondant sans doute à l'évolution d'un processus plus étendu qui n'a abouti à de telles altérations qu'en certains endroits, plus fortement atteints d'emblée.

D'autre part, il existe des signes indiquant que la néphrite n'a pas encore achevé d'évoluer partout; les troubles cytologiques, légers et en voie d'amélioration et de localisation semble-t-il, mais incontestables, des tubes contournés ne laissent aucun doute à cet égard, pas plus que l'existence de cylindres de natures diverses, encore en voie d'élimination.

b) *Groupe des chiens n'ayant pas paru souffrir de l'élimination d'hémoglobine, élimination qui s'est d'ailleurs faite aisément :*

Chien 73 (Observation XX). — Sacrifié en parfait état au bout du septième jour.

Les reins de cet animal présentent des altérations beaucoup moins accusées que ceux des deux animaux précédents.

Dans leur ensemble les corpuscules de Malpighi sont intacts et ne présentent pas dans leur cavité de traces d'exsudats colorables ou non par la méthode au cyanol.

Les tubes contournés ont, dans leur immense majorité, une structure parfaitement normale avec un chondriome intact et une bordure en brosse indemne. Quelques-uns renferment cependant, de loin en loin, quelques exsudats granuleux, non colorables par le cyanol. Dans les segments à bâtonnets, l'intégrité est moins évidente. Si les altérations destructives signalées au stade précédent manquent en général, on doit reconnaître que les cellules sont gonflées à contours moins nets que de coutume, tandis que les bâtonnets de Heidenhain sont hyposidérophiles ou fragmentés en granules dispersés, sans ordre dans le cytoplasme. Par endroits, d'ailleurs, persistent encore quelques traces de processus de décapitation cellulaire et d'exode de boules sarcodiques (microphoto XII).

Au niveau des branches grêles des anses de Henle et des tubes droits, les épithéliums sont généralement intacts bien que leur chondriome, normalement très délicat, paraisse plus difficile à imprégner que de coutume. Occasionnellement, on rencontre dans ces tubes, et tout particulièrement dans les tubes de Bellini, des cylindres cellulaires provenant de la desquamation de segments tubulaires plus haut situés, des cylindres granuleux ou homogènes. A de très rares exceptions près, aucun de ces cylindres ne présente la réaction au cyanol, ce qui concorde avec le fait par ailleurs

bien démontré d'un achèvement déjà réalisé depuis plusieurs de l'élimination de l'hémoglobine. Un phénomène intéressant à noter dans ces reins, et qui apparaîtra d'ailleurs beaucoup plus nettement chez d'autres animaux, est la présence de grains de pigments jaune d'or ne donnant pas la réaction du fer que l'on trouve dans quelques cellules des tubes contournés et, avec une fréquence moindre, dans certains éléments des segments à bâtonnets.

En résumé on est en présence d'une néphrite épithéliale légère, mais incontestable, vraisemblablement en voie d'amélioration.

Chien 9 (Observation XVIII). — Sacrifié en très bon état au bout de quinze jours.

Il semble que ce chien ait été peut-être un peu plus touché que le précédent, bien qu'il soit difficile, comme on l'a déjà dit, d'établir une échelle de gravité des lésions entre ces divers animaux réalisés à des temps divers.

On trouve en tous cas, des lésions de néphrite épithéliale classique portant au niveau des divers segments des tubes urinaires.

On observe ici aussi, principalement dans les tubes contournés, des images d'athrocytose du pigment jaune d'or ne donnant pas la réaction du fer. Ces images s'observent aussi, mais beaucoup plus rarement au niveau des segments à bâtonnets et même au niveau des tubes droits.

En somme, à ce stade, l'élimination rénale de l'hémoglobine est terminée depuis longtemps. Il persiste cependant quelques tubes où on voit ce pigment imprégnant des cylindres homogènes; mais c'est fort peu de chose.

En définitive, les examens histologiques des reins des animaux ayant subi une injection d'hémoglobine à 3,5 p. 100 dans les veines, confirment et complètent les renseignements d'ordre clinique que nous avons obtenus chez ces chiens.

Ils les confirment en ce sens, qu'ils montrent des altéra-

tions importantes dans les cas où les signes cliniques étaient évidents. Cependant, de même que nous n'avons pas observé, du point de vue fonctionnel, d'anurie complète rapidement mortelle avec les solutions à 3,5, comme nous l'avons vu trois fois chez des chiens soumis aux solutions d'hémoglobine à 14 p. 100, de même l'examen histologique précoce des reins de l'un des plus malades de nos chiens traités par les solutions à 3,5 ne nous a pas montré comme dans les cas précédents d'encombrement aussi massif des tubes urinaires.

Cette différence d'intensité mise à part, les lésions toutefois sont du même ordre. Elles prédominent, au niveau des tubes aussi, tandis que les glomérules paraissent peu atteints. Certains tubes, en plus ou moins grand nombre, sont obstrués par des cylindres de divers types, et leurs cellules présentent des altérations pouvant aller jusqu'à la desquamation partielle ou totale. D'autres ont réussi à éliminer leur hémoglobine, mais leur épithélium montre cependant les traces de l'irritation produite par le passage de celle-ci.

De telles néphrites peuvent s'améliorer, mais vraisemblablement sous l'influence de ces rétentions de pigment plus ou moins transformé dans certains tubes dont la perméabilité reste à jamais perdue, se constituent des foyers de néphrite interstitielle parcellaire entretenant une insuffisance rénale persistante, comme dans le cas du chien 13 (observation XVI).

L'observation clinique nous a montré par ailleurs que certains animaux ne paraissent pas présenter de troubles de leurs fonctions rénales, en dehors de l'hémoglobinurie, et l'on pourrait être tenté de conclure que les reins n'ont pas souffert du passage du pigment dans leur sein. Les examens histologiques nous montrent en réalité que l'exploration fonctionnelle est insuffisante à cet égard pour donner une idée exacte des faits. Sans doute, l'hémoglobine a-t-elle pu dans ces cas être partout éliminée; mais les épithéliums,

même au bout de huit jours, même au bout de quinze jours, présentent encore les stigmates de l'irritation produite par le pigment. Ce dernier a bien produit une néphrite épithéliale, légère sans doute, mais indubitable, et au reste paraissant susceptible de s'améliorer rapidement.

2° Examens histologiques des poumons

a) Groupe de chiens ayant présenté des signes évidents de néphrite :

Chien 31 (Observation XIV). — Sacrifié au bout de vingt-quatre heures.

On ne constate pas de réaction inflammatoire ni au niveau des parois alvéolaires, ni au niveau des parois bronchiques. Par contre, on observe de très importants dépôts de pigment sur lesquels nous reviendrons ultérieurement.

Chien 13 (Observation XVI). — Sacrifié au bout d'un mois.

On observe les traces d'un processus réactionnel, dans d'assez larges plages, caractérisé par l'épaississement des cloisons alvéolaires et leur infiltration par des cellules conjonctives, de type polyblaste surtout.

Il faut souligner également la présence persistante d'amas pigmentaires noirs abondants qui siègent dans le tissu conjonctif sous-pleural, les fentes conjonctives périvasculaires, les axes péribronchiques et parfois les gros bourrelets des canaux alvéolaires. Nous reviendrons également ultérieurement sur la signification de ce pigment.

b) Groupe des chiens n'ayant pas paru souffrir de l'élimination de l'hémoglobine, élimination qui s'est d'ailleurs faite aisément :

Chien 73 (Observation XX). — Sacrifié au bout de sept jours.

Le poumon présente un état réactionnel modéré, mais

indubitable, caractérisé essentiellement par un épaissement des cloisons alvéolaires qui sont envahies par des cellules conjonctives de type polyblaste. Il n'y a pas d'alvéolite à proprement parler et les cellules à poussière elles-mêmes sont rares dans les alvéoles. Il faut encore signaler la présence de nombreux pigments noirs comme chez le chien précédent, mais aussi d'une autre variété de pigment intracellulaire, jaune ou jaune vert, dont nous discuterons de la nature à la dernière partie de ce travail.

Chien 9 (Observation XVIII). — Sacrifié au bout de quinze jours.

On constate également, une réaction de parois alvéolaires, d'ailleurs faible et parcellaire, et surtout, ici aussi, une infiltration de pigment noir.

En définitive, deux sortes de processus sont à relever au niveau des poumons chez ces chiens : une réaction des parois alvéolaires paraissant plus faible d'ailleurs que dans le cas des chiens soumis aux solutions d'hémoglobine à 14 p. 100, et surtout une surcharge de pigments noirs sur la signification desquels nous aurons l'occasion de revenir.

3° Examen histologique des foies

a) Groupe des chiens ayant présenté des signes évidents de néphrite :

Chien 31 (Observation XIV). — Sacrifié au bout d'un jour.

Chez ce chien, le foie paraît normal. Cependant, dans certaines plages irrégulières, inégales et non systématisées, il existe une surcharge manifeste des cellules hépatiques en pigment jaune vert, sous forme de fins granulés. Parfois même, on peut voir des segments du réseau des canalicules biliaires injectés de ce pigment jaune vert. Il n'y a pas d'attitude réactionnelle appréciable des cellules de Kupffer

qui ne sont ni augmentées de volume, ni mobilisées. Ce n'est que d'une façon exceptionnelle que l'on a pu mettre en évidence au niveau de ces cellules des grains de pigment vert ne donnant pas la réaction du fer. Les méthodes mitochondriales ne révèlent pas d'altération de ces constituants cellulaires. D'une façon générale, cependant, il y a une prédominance manifeste des formes granuleuses du chondriome dans les diverses zones du lobule, ce qui, d'après les conceptions de Noël, pourrait être interprété comme le signe d'un fonctionnement accéléré de la cellule hépatique.

Chien 13 (Observation XVI). — Sacrifié au bout d'un mois.

Quatre phénomènes s'observent au niveau du foie, malgré une intégrité apparente de l'organe :

1° Une légère réaction des cellules de Kupffer.

2° Une charge abondante de pigment jaune sans localisation bien nettement définie, intéressant les cellules hépatiques elles-mêmes et respectant les cellules de Kupffer, dont quelques-unes seulement présentent quelques grains jaunes au niveau du cytoplasme.

3° Il n'y a pas à proprement parler d'altérations hépatiques manifestes, même localisées au chondriome. Cependant, on trouve d'assez nombreuses cellules contenant des vacuolisations, optiquement vides, et présentant des aspects de clarification réactionnelle.

4° Ce qui est surtout remarquable, c'est la présence dans le cytoplasme d'assez nombreuses figures de cristalloïdes et de tablettes sidérophiles, vraisemblablement en rapport avec les transformations subies dans cet organe par l'hémoglobine, et sur la description et la signification desquelles nous reviendrons.

b) *Groupe des chiens n'ayant pas paru souffrir de l'élimination d'hémoglobine, élimination qui s'est d'ailleurs faite aisément :*

Chien 73 (Observation XX). — Le foie est d'apparence normale. On retrouve quelques grains de pigment biliaire au niveau de rares cellules hépatiques. Les cellules de Kupffer semblent un peu plus nombreuses que de coutume, sans contenir jamais de pigment.

Chien 9 (Observation XVIII). — Le foie est normal. A noter seulement d'assez nombreux grains de pigment jaune dans les cellules hépatiques et exceptionnellement dans les cellules de Kupffer. Ce pigment ne donne pas la réaction du fer. C'est vraisemblablement du pigment biliaire.

En définitive, exception faite de certaines images en rapport avec le dépôt de pigment au niveau de l'organe, dépôt d'ailleurs plus appréciable chez les chiens du premier groupe qui ont présenté des troubles de l'élimination de leur hémoglobine que chez les deuxièmes, on ne note pas de lésions importantes, ni même pour ces derniers, appréciables, du parenchyme hépatique.

4° *Examen des rates*

a) *Groupe des chiens ayant présenté des signes évidents de néphrite :*

Chien 31. — Sacrifié au bout d'un jour.

La rate est fortement congestionnée par stase sanguine passive dans la pulpe rouge qui est remplie d'hématies serrées les unes contre les autres. Cette infiltration sanguine est telle que l'examen histologique est difficile. On n'a trouvé que d'une façon exceptionnelle de rares amas de pigment libre ou phagocyté par les macrophages de la pulpe rouge. C'est un pigment jaune d'or que la réaction

du fer après démasquage permet d'identifier comme de l'hémosidérine.

Chien 13. — Sacrifié au bout d'un mois.

La pulpe rouge présente des cellules lympho-conjonctives en nombre plus élevé que normalement. On rencontre, soit inclus dans les macrophages, soit à l'état libre, des amas pigmentaires jaunes, donnant la réaction du fer par endroits assez abondants.

b) Groupe des chiens n'ayant pas paru souffrir de l'élimination d'hémoglobine, élimination qui s'est d'ailleurs faite aisément :

Chien 73 (Observation XX). — Sacrifié au bout de sept jours.

Chien 9 (Observation XVIII). — Sacrifié au bout de quinze jours.

Ces deux animaux ont une rate à peu près semblable, caractérisée par une forte réaction de la pulpe rouge, qui est encombrée de cellules lympho-conjonctives diverses, extrêmement nombreuses. Les ocytes, c'est-à-dire les macrophages bourrés de grosses enclaves d'hémosidérine ou à protoplasma présentant uniformément une imprégnation diffuse par ce pigment, sont rares. Par contre, d'assez nombreuses cellules de la pulpe rouge présentent un petit nombre de fins granules pigmentaires donnant généralement la réaction du fer.

En résumé, il paraît se produire après l'injection intra-veineuse de solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100 une congestion intense de la rate, en rapport vraisemblablement avec la fonction d'arrêt de cet organe vis-à-vis de cette hémoglobine. Par la suite se produit une réaction de la pulpe rouge, liée sans doute à un processus de liquidation

sur place des oocrocytes, chargés de pigment; et on ne retrouve plus à la longue que quelques débris de ce pigment dans les macrophages spléniques.

Si l'on compare les rates des chiens 73, 9 et 13, sacrifiés respectivement au bout de sept, quinze et trente jours, on constate que cette réaction est en décroissance avec le temps, mais pas d'une manière absolue, ce qui semble indiquer que le processus de liquidation ci-dessus décrit s'effectue plus ou moins vite, et sans doute d'autant moins que la rétention de pigment dans l'organisme a été plus importante.

IV. — RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Il résulte de ces diverses données que l'administration par voie veineuse à des chiens, venant de subir une déperdition de sang variant selon les cas de 30 à 50 cc. de sang par kilogramme de poids du corps, d'une quantité égale à la moitié du volume du sang prélevé d'une solution à 3,5 p. 100 d'hémoglobine de cheval ou de chien, est dans tous les cas très bien supportée par l'animal sur le moment, mais peut provoquer chez certains d'entre eux, dès les heures qui suivent, des signes de souffrance plus ou moins graves de l'appareil rénal.

Ces accidents sont cependant, dans le cas de solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100, plus inconstants que dans celui des solutions à 14 p. 100. Certains chiens présentent en effet des néphrites qui peuvent être importantes. D'autres ne paraissent nullement incommodés et, l'élimination de l'hémoglobine terminée, et le plus souvent sans encombre, ils ne présentent aucun signe d'insuffisance rénale. Les examens histologiques montrent cependant, même dans ce cas, des signes de néphrite épithéliale, d'ailleurs modérée, et améliorables.

Le comportement des animaux vis-à-vis des solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100 est donc très variable. Certains

présentent, tout d'abord, quoique généralement d'une façon moins intense que dans les cas les plus graves observés avec des solutions à 14 p. 100, un encombrement de leurs tubes urinaires avec une altération plus ou moins importante de ceux-ci, ce qui se traduit par de l'oligurie, puis secondairement, du fait de la rétention de cylindres dans un pourcentage plus ou moins élevé de tubes, des lésions de néphrite épithéliale et interstitielle par zones, plus ou moins étendues et plus ou moins nombreuses, d'où des signes de néphrite persistants. D'autres, au contraire, éliminent beaucoup mieux et beaucoup plus vite leur hémoglobine, d'où oligurie initiale peu importante et passagère, et ne présentent par la suite que des altérations histologiques de néphrite épithéliale, insuffisantes pour donner des signes cliniques sérieux ou même pour s'extérioriser.

La raison de ces différences dans le comportement de ces animaux est difficile à donner. L'origine canine ou équine du sang servant à la préparation des solutions n'a, semble-t-il, aucune influence à cet égard. Il en est de même des modalités d'administration, du moins dans les limites de variations où nous nous sommes placés. Il importe que les solutions soient isotoniques au plasma sanguin de chien, qu'elles présentent une composition minérale analogue à ce dernier, et surtout qu'elles aient été filtrées sur filtre Seitz stérilisant. Mais tous ces perfectionnements ne suffisent pas à les rendre régulièrement atoxiques; et en définitive le facteur individuel semble jouer le rôle essentiel à cet égard.

Lorsque des néphrites se produisent avec des solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100, elles sont exceptionnellement mortelles, comme il arrive assez souvent avec les solutions à 14 p. 100. Elles affectent le plus souvent une forme modérée et, dans ce cas d'ailleurs, elles sont persistantes, quoique plus ou moins améliorables. Ou bien au contraire elles sont légères et sont alors généralement fugaces.

Cette différence d'intensité mise à part, ces néphrites sont

de même type que celles que l'on observe avec les solutions d'hémoglobine à 14 p. 100. Ce sont des néphrites azotémiques avec rétention dans les humeurs de tous les déchets azotés non protéïques. Elles ne s'accompagnent ni d'œdème ni d'ascite. On n'observe pas de modification dans la teneur du sang en chlore et l'élimination des chlorures reste normale.

Le foie ne manifeste ni cliniquement, ni histologiquement des signes de souffrance.

Les poumons, par contre, présentent une légère réaction des parois alvéolaires, plus modérée que dans le cas des solutions très concentrées. Ils sont le siège d'une importante infiltration pigmentaire sur laquelle il y aura lieu de revenir.

La rate, enfin, paraît effectuer un travail d'arrêt appréciable vis-à-vis du pigment, avec liquidation sur place. Mais ce processus n'entraîne pas d'altération de l'organe.

CHAPITRE V

Etude toxicologique de l'hémoglobine en solution à 6,5 ou 7 p. 100, administrée par voie veineuse à dose thérapeutique, à des chiens en état d'anémie aiguë par saignée.

Nous avons suivi, pour l'étude toxicologique des solutions d'hémoglobine à 7 p. 100, des techniques de préparation et d'utilisation semblables à celles que nous avons employées pour les solutions à 14 et à 3,5 p. 100. Nous avons expérimenté sur quatorze chiens. Nous rapporterons d'abord leurs observations, puis nous analyserons les troubles fonctionnels que nous avons pu constater, et enfin nous décrirons les aspects histologiques que présentent les différents organes de ces animaux.

I. — OBSERVATIONS

Nous rappellerons d'abord les observations de quatre chiens, expérimentés par Sappey, notre prédécesseur au laboratoire, chiens qui furent traités par des solutions, non filtrées sur filtre Seitz, d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100, contenant 9 grammes p. 1.000 de Cl Na, et que nos dosages nous ont montré être hypertoniques. Puis nous rapporterons un groupe de chiens traités, en collaboration avec notre ami Castets, par des solutions, filtrées ou non, d'hémoglobine de cheval, ne contenant que 3 gr. 50 de Cl Na. Ces solutions sont manifestement hypotoniques par rapport au plasma sanguin de chien. Nous exposerons ensuite les observations de six chiens que nous avons soumis à une injection intraveineuse d'une solution à 6,5 p. 100 d'hémoglobine de

cheval, rendue isotonique au plasma sanguin de chien et contenant des sels minéraux en quantité analogue à ceux de ce milieu. Les solutions furent tantôt filtrées et tantôt non filtrées sur Seitz. Enfin nos dernières observations auront trait à deux chiens traités dans des conditions analogues, avec une solution filtrée d'hémoglobine de chien à 6,5 p. 100 et amenée également à la même tonicité et à la même composition minérale que le plasma de chien.

1° *Expériences conduites avec des solutions d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100, hypertoniques et non filtrées sur filtre Seitz.*

Nous ne disposons à ce sujet que de quatre observations de Sappey (chiens 1, 6, 7 et 10). Cet auteur, se plaçant à un autre point de vue que nous, n'avait pas spécialement étudié le fonctionnement des reins de ses animaux. Aussi les renseignements que nous avons trouvés dans son travail à ce sujet sont-ils extrêmement sommaires. Sans doute indique-t-il que les taux d'urée sanguine furent trouvés normaux, mais les dosages ont été pratiqués la plupart du temps assez longtemps après l'injection d'hémoglobine et nous n'avons pas de données précises sur cette valeur dans les jours qui ont suivi celle-ci. Dans les cas des chiens 7 et 10, cependant, la recherche de l'azotémie fut effectuée trois jours après l'expérience. Les chiffres trouvés furent d'ailleurs normaux.

Aucun des chiens de Sappey traités par de l'hémoglobine à 7 p. 100 n'a présenté les troubles graves du fonctionnement des reins que cet auteur, et nous après lui, avons constatés avec les solutions à 3,5 p. 100 et plus encore à 14 p. 100. Aussi conclut-il que les animaux recevant des injections d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100 n'en subissent aucun dommage. En réalité, quand on lit de près ses observations, on constate que la plupart de ses chiens ont présenté une oligurie très marquée, pendant les deux ou

trois jours qui ont suivi l'injection. Ainsi le chien 6 n'a uriné pour la première fois que dix-huit heures après celle-ci, et encore n'a-t-il émis alors que 350 cc. d'urine. Il élimina le surlendemain 300 cc., le troisième jour 400 cc. seulement; et ce n'est qu'à partir de ce moment, qui correspondait d'ailleurs à la cessation de l'hémoglobinurie, que la diurèse se rétablit normalement. Le chien 7 n'émit le jour de l'intervention que 50 cc. d'urines chargées d'hémoglobine; le lendemain, 30 cc. seulement; le surlendemain, 400 cc.; et le quatrième jour, 300 cc. Ce n'est qu'à partir du cinquième jour que les urines redevinrent abondantes et normales. Le chien 10 élimina, le jour de la transfusion, 170 cc.; le lendemain, 300 cc; le surlendemain, 300 cc.; et ce n'est qu'à partir du quatrième jour que le cours des urines reprit son rythme habituel.

Bien que ces troubles aient été assez bénins, par rapport aux accidents graves observés chez les chiens ayant reçu des solutions d'hémoglobine à 14 ou à 3,5 p. 100, nous avons pensé qu'ils n'étaient pas négligeables; et, cherchant à perfectionner la technique de F. Sappey, pour essayer de rendre les préparations d'hémoglobine à 7 p. 100 aussi peu toxiques que possible, nous avons jugé inutile de répéter ses expériences avec des solutions hypertoniques. Nous avons préféré employer des milieux hypotoniques ou isotoniques par rapport au plasma sanguin de chien.

De plus, les solutions employées par Sappey n'avaient pas été passées sur filtres Seitz. Afin de juger de l'importance de la filtration sur la toxicité des liquides hémoglobinés, nous avons utilisé tantôt, et le plus souvent, des solutions filtrées sur filtres stérilisants, tantôt, et plus rarement, des solutions non filtrées.

*2° Expériences conduites avec des solutions
d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100, hypotoniques*

a) *Solutions non filtrées sur filtres Seitz.* — Nous n'avons

fait qu'une expérience, la première de ce groupe, avec une telle préparation.

OBSERVATION XXIII

Chien 56. — Poids 16 kg. 500. Après différents examens de sang et d'urines, pratiqués chez ce chien à l'état normal, on lui enleva un matin 720 cc. de sang en trois temps, espacés d'une demi-heure d'intervalle, soit 40 cc. par kilogramme du poids du corps. On injecta ensuite à l'animal, qui semblait très éprouvé par cette saignée, 370 cc. d'une solution d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100, additionnée de 3,5 p. 100 de Cl Na et non filtrée sur filtre Seitz, mais longuement centrifugée et soigneusement décantée pour éliminer, autant que possible, les fragments capsulaires et les débris d'hématies éclatées. L'injection rendit la respiration du chien plus ample, et redonna un peu de vigueur à l'animal qui resta cependant par la suite assez apathique toute la journée, refusant toute nourriture et toute boisson.

Le lendemain, le chien était encore assez abattu. Il ne s'alimenta pas. Il émit 210 cc. d'une urine très foncée contenant 5 gr. 10 p. 1.000 d'hémoglobine. Le taux de l'urée sanguine était de 0 gr. 60.

Le surlendemain, l'animal urina en deux fois 600 cc. et présentait encore un peu d'hémoglobine dans ses premières urines (1,20 p. 1.000). A partir de ce moment la diurèse redevint normale et le chien recouvra son appétit et sa vigueur habituels. Dans les urines, les différents dosages pratiqués ne montrèrent aucune augmentation de la faible albuminurie que présentait l'animal avant l'expérience; et l'on n'observa pas de cylindre. Les dosages d'urée et de chlorures pratiqués tous les jours donnèrent des chiffres très constants oscillant de 9,2 à 11 gr. 8, p. 1.000 pour l'urée, et de 6,6 à 9 gr. 1 p. 1.000 pour les chlorures.

Dans le sang, le taux de l'urée redevint normal (0,23) dès le surlendemain, et les dix-sept dosages effectués ultérieurement ne montrèrent aucune élévation de cette valeur jusqu'au sacrifice de l'animal. On n'observa de même aucune variation dans le taux du cholestérol (1,45-1,50), ni de la glycémie (0,89-0,94).

Le chien fut sacrifié en parfait état un mois après l'injection d'hémoglobine.

En résumé, ce chien ayant subi une saignée de 40 cc. par kilogramme de poids du corps et qui reçut dans les veines une quantité, équivalente à la moitié de celle du sang enlevé, d'une solution d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100, hypotonique, non filtrée sur filtre Seitz, présenta, durant les deux jours suivant l'injection, une poussée d'azotémie avec oligurie. Ces troubles furent cependant très passagers : dès le surlendemain de l'administration d'hémoglobine, ils disparurent.

b) *Solutions filtrées sur filtre Seitz stérilisant.* — Cinq chiens furent ainsi traités et sacrifiés respectivement au bout de trente-six heures, quinze jours, un mois, deux mois et demi et trois mois, en vue d'examens histologiques. Nous rapportons leur histoire dans l'ordre de la durée d'observation.

OBSERVATION XXIV

Chien 59. — Poids 12 kg. 500. Après avoir effectué divers examens de sang et d'urines, ainsi que les épreuves fonctionnelles de la P. S. P., du rose bengale et de la galactosurie provoquée, toutes recherches qui ne révélèrent rien d'anormal, on enleva à ce chien, le 21 juillet 1936, dans la soirée, 500 cc. de sang, soit 40 cc. par kilogramme; et on lui injecta aussitôt après 250 cc. d'une solution d'hémoglobine de cheval, à 7 p. 100 contenant 3 gr. 50 de Cl Na p. 1.000, et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Après l'intervention, le chien, mis à terre, sembla parfaitement normal, alerte et vigoureux; il mangea sa soupe dès qu'on la lui présenta. Dans la journée, il émit un peu d'urine contenant de l'hémoglobine; le lendemain il élimina 650 cc. d'urines renfermant 6 gr. 80 d'hémoglobine p. 1.000. Le taux de l'urée sanguine était de 0,30, celui de la cholestéronémie de 1,40, et celui de la glycémie de 0,96. Dans

la nuit suivante, l'animal émit 950 cc. d'une urine contenant 0,83 d'hémoglobine et quelques cylindres hyalins. Le chien fut sacrifié trente-six heures après l'intervention.

OBSERVATION XXV

Chien 57. — Poids 10 kg. 500. Après avoir pratiqué chez cet animal divers dosages ainsi que les épreuves de la P. S. P., et de la galactosurie provoquée, on pratiqua, le 9 juin 1936, une saignée de 480 cc., soit 44 cc. par kilogramme, en trois temps espacés d'une demi-heure chacun. On injecta ensuite en vingt minutes 250 cc. d'une solution d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100, additionnée de 3,5 de Cl Na et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Après la transfusion l'animal se promena, alerte et vigoureux dans la salle d'opération. Il mangea sa soupe avec appétit. Il n'urina cependant pas de toute la journée; mais il émit le lendemain une première fois, 600 cc. d'urine contenant 7 gr. 8 d'hémoglobine et une deuxième fois, 880 cc. contenant 0,88 d'hémoglobine. Le taux de l'urée sanguine était ce jour-là de 0 gr. 28; celui de la cholestéronémie de 1 gr. 55, et celui de la glycémie de 1 gr. 05. Par la suite, l'animal ne présenta aucun trouble pathologique. La diurèse, notamment, s'effectua d'une façon absolument normale et les différentes épreuves fonctionnelles effectuées chez lui ne révélèrent rien de particulier.

Dans les urines, on trouva régulièrement la présence de quelques centigrammes d'albumine; mais l'animal, comme beaucoup de chiens, présentait déjà cette légère albuminurie avant l'injection d'hémoglobine. On ne décela jamais ni urobiline, ni pigments, ni sels biliaires. On ne constata pas non plus de cylindrurie.

Les dosages de l'urée sanguine répétés à huit reprises différentes donnèrent les résultats suivants :

Avant	0,17-0,19	Neuf jours après	0,18
Deux jours après	0,28	Douze jours après	0,19
Trois jours après	1,15	Seize jours après	0,20
Cinq jours après	0,19		

Enfin, les épreuves de la P. S. P. et de la galactosurie provoquée, effectuées au bout de huit jours, donnèrent des résultats

tout à fait normaux, comme on peut le voir dans le tableau ci-dessous :

Epreuves fonctionnelles

	Normal	Huit jours après	
P. S. P.	62 p. 100	65 p. 100	
Galactosurie provoquée :	NORMAL		
	Vol.	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	140 cc.	4,85	0 gr. 68
4 heures	15 cc.	1,25	0 gr. 18
10 heures	350 cc.	0	0 gr.
24 heures	200 cc.	0	0 gr.
			0 gr. 86
	8 JOURS APRÈS		
	Vol.	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	220 cc.	11,1	2 gr. 44
4 heures	25 cc.	3,90	0 gr. 97
10 heures	300 cc.	0	0 gr.
24 heures	300 cc.	0	0 gr.
			3 gr. 41

Le chien fut sacrifié quinze jours après avoir subi l'injection d'hémoglobine; il pesait alors 12 kg. 500 et avait donc engraisé de deux kilogrammes en quinze jours.

En résumé, chez ce chien ayant subi une saignée, puis une injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100 additionnée de 3 gr. 5 p. 1.000 de Cl Na et filtrée sur filtre Seitz stérilisant, on n'observa aucun trouble fonctionnel appréciable des reins, si ce n'est la suspension de la diurèse dans les heures suivant l'injection.

OBSERVATION XXVI

Chien 58. — Poids 16 kilogrammes. On pratiqua chez cet animal les examens habituels ainsi que les épreuves de la P. S. P. et de la galactosurie provoquée. On effectua alors, le 12 juin 1936, une saignée de 670 cc., soit 41 cc. de sang par kilogramme de poids du corps, en trois temps espacés chacun

d'une demi-heure, et on injecta ensuite 350 cc. d'une solution d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100, titrant 3,20 de Cl Na p. 1.000 et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Après la transfusion, l'animal ne parut nullement fatigué. Il allait et venait avec entrain; but et mangea toute sa ration. Il n'urina pas pourtant ce jour-là, mais émit le lendemain matin, 350 cc. d'urines contenant 8 gr. 75 d'hémoglobine, puis, 200 cc. en contenant 0 gr. 38. Dès le surlendemain, la diurèse redevint abondante, se fixant aux environs de 1.500 cc. par jour.

Dans les urines, analysées chaque jour, on retrouva après la fin de l'hémoglobinurie, des petites quantités d'albumine qui existaient avant l'injection d'hémoglobine. Les quantités de chlorures, qui furent éliminées quotidiennement, restèrent aux environs de 4 gr. 80 p. 1.000, et celles de l'urée urinaire autour de 5 grammes p. 1.000. Le seul phénomène pathologique que l'on peut relever dans les urines fut la présence constante de quelques rares cylindres hyalins. Cette cylindrurie existait encore au bout d'un mois, quand on sacrifia l'animal.

Dans les tableaux ci-dessous, on trouvera les taux d'urée constatés à diverses reprises, ainsi que les résultats des épreuves de la P. S. P. et de la galactosurie provoquée. Tous ces examens se montrent normaux.

Taux de l'urée sanguine

Normal	0,14	Septième jour	0,15
Deuxième jour	0,31	Douzième jour	0,19
Troisième jour	0,18	Quinzième jour	0,20
Sixième jour	0,18	Trente-quatrième jour ...	0,21

Epreuves fonctionnelles

	Normal	Huit jours après
P. S. P.	60 p. 100	76 p. 100

Galactosurie provoquée :

	NORMAL		
	Vol.	Taux p. 1000	Q. elim.
2 heures	230 cc.	9	1 gr. 97
4 heures	45 cc.	0	0 gr.
10 heures	90 cc.	0	0 gr.
24 heures	500 cc.	0	0 gr.
			1 gr. 97

8 JOURS APRÈS			
	Vol.	Taux p. 1000	Q. élim.
2 heures	200 cc.	7,9	1 gr. 58
4 heures	25 cc.	12,1	0 gr. 30
10 heures	60 cc.	3,7	0 gr. 22
24 heures	500 cc.	0	0 gr.
			2 gr. 10

En résumé, l'injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100, additionnée de 3 gr. 5 p. 1.000 de Cl Na et filtrée sur filtre Seitz stérilisant, n'a provoqué chez ce chien aucun trouble rénal important. A signaler cependant une cylindrurie persistante.

OBSERVATION XXVII

Chien 63. — Poids 11 kilogrammes. Les différents examens ayant été pratiqués chez cet animal ainsi que les épreuves de la P. S. P. et de la galactosurie, et rien d'anormal n'ayant été constaté, on lui enleva un matin 290 cc. de sang en une demi-heure, soit 38 cc. par kilogramme de poids du corps. On lui injecta ensuite 280 cc. d'une solution d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100 contenant 3,50 de Cl Na p. 1.000 et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Le chien, aussitôt après la transfusion, se montra tout à fait normal et mangea sa soupe. Il n'urina pas dans la journée, mais dans la nuit suivante, il émit 900 cc. d'urines contenant 6 gr. 75 d'hémoglobine, et le lendemain 1.000 cc. en renfermant 5 gr. 10. L'urée sanguine était de 0 gr. 22.

Le surlendemain, l'animal émit encore 900 cc. d'urines contenant 1 gr. 53 d'hémoglobine, et une deuxième fois 66 cc. n'en contenant plus.

Les différents examens pratiqués par la suite tant en ce qui concerne le sang que les urines et les épreuves fonctionnelles n'ont montré rien d'anormal. Le chien fut sacrifié trois mois après, le 19 mai 1937, aux fins d'examens histologiques.

En résumé, ce chien, après avoir subi une saignée, puis l'injection d'une solution à 7 p. 100 d'hémoglobine addi-

tionnée de 3,5 p. 1.000 de Cl Na et filtrée sur filtre Seitz stérilisant, n'a présenté aucun trouble dans le fonctionnement des reins en dehors de la suspension habituelle de la diurèse pendant les heures suivant l'expérience.

OBSERVATION XXVIII

Chien 64. — Poids 6 kg. 500. Les différentes épreuves et examens habituels étant effectués et n'ayant montré rien d'anormal, on pratiqua chez cet animal, un matin, une saignée de 160 cc. et on lui injecta aussitôt après une quantité identique d'une solution d'hémoglobine de cheval, additionnée de 3 gr. 5 de Cl Na p. 1.000 et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Après la saignée, l'animal se montra en excellent état : il marcha alertement dans la salle d'opération et mangea sa soupe. Il n'urina pas au cours de la journée, mais il émit le lendemain 350 cc. d'une urine contenant 16 grammes p. 1.000 d'hémoglobine. Le taux de l'urée sanguine ce jour-là était de 0 gr. 38.

Le lendemain, le taux de l'urée était de 0 gr. 18. Le chien émit ce jour-là 750 cc. d'urines contenant des traces d'hémoglobine.

Les jours suivants la diurèse fut tout à fait normale et les différents examens de sang et d'urines ne révélèrent rien de pathologique en dehors de la présence persistante de quelques cylindres granuleux.

L'animal fut sacrifié aux fins d'examens histologiques le 7 mai 1937, soit trois mois après avoir subi l'injection d'hémoglobine.

En résumé, ce chien, soumis à une saignée importante, puis traité par une solution d'hémoglobine à 7 p. 100 additionnée de 3 gr. 5 de Cl Na p. 1.000 et filtrée sur filtre Seitz stérilisant, n'a présenté aucun trouble dans le fonctionnement des reins, si ce n'est une légère diminution de la diurèse au cours du premier jour suivant l'injection, en même temps qu'une éphémère et très légère augmentation

du taux de l'urée sanguine. Ces troubles, par la suite, disparurent rapidement. Mais il persista une légère cylindrurie.

3° *Expériences conduites avec des solutions d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, rendues isotoniques au plasma sanguin de chien, et de même composition minérale que ce dernier milieu.*

Nous rappelons que nous avons choisi le titre de 6,5 comme étant celui qui confère aux solutions d'hémoglobine la pression colloïdale osmotique, la viscosité et la tension superficielle la plus voisine des valeurs correspondantes du plasma sanguin de chien. Par ailleurs, nous avons rendu ces solutions isotoniques à ce dernier milieu par addition de chlorure de sodium en proportions convenables, et enfin nous leur avons donné la même composition minérale. Finalement nos solutions correspondaient à la constitution suivante :

Δt	— 0,58	$P^2 O^5$	0,112
Viscosité	0,0086-0,0075	K	0,70
Tens. superf.....	68-70	Na	3,60-3,65
P. O. C.	36-40	Cl	5,15-5,30
Ca	0,109		

Nous avons opéré dans deux cas avec de telles solutions non filtrées sur filtres stérilisants, dans quatre autres cas avec des solutions analogues filtrées sur des filtres Seitz stérilisants.

a) *Solutions non filtrées sur filtres stérilisants :*

OBSERVATION XXIX

Chien 101. — Poids 19 kilogrammes. Toutes les analyses et épreuves habituelles étant faites, on enleva à l'animal un soir, à la veine fémorale dénudée, 570 cc. de sang en un seul temps, soit 30 cc. par kilogramme de poids du corps; et on lui injecta aussitôt après en vingt minutes, 285 cc. d'une solution d'hémo-

globine à 6 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, et de même composition minérale que ce milieu. Cette solution ne fut pas filtrée sur filtre Seitz stérilisant, mais seulement sur filtre filtrant. De plus, l'évaporation de l'éther était incomplète, par suite d'une imperfection de préparation.

Le chien, qui était assez abattu après la saignée, se mit à se débattre au cours de l'administration de l'hémoglobine. Il respirait alors bruyamment et son haleine sentait l'éther. L'injection terminée, il parut comme hébété. Il marcha quelque peu, mais en titubant. Bientôt, il se coucha sur le sol, les pattes de devant écartées. Cet état ne dura d'ailleurs que peu de temps, l'animal redevenant rapidement normal. Il ne mangea cependant que partiellement sa soupe dans la journée. Dans la soirée, on le retrouva baignant dans le sang. Il avait arraché les points de suture de la plaie opératoire et il fallut le remettre sur la table d'opération, lier la veine fémorale qui saignait et refermer la plaie.

Le chien urina pour la première fois, le lendemain matin de l'opération, soit douze heures environ après l'injection d'hémoglobine, et émit 260 cc. d'une urine contenant 0,6 p. 100 d'hémoglobine, soit 1 gr. 56. Il élimina dans la journée en une deuxième miction, 800 cc. d'urines contenant 0,2 d'hémoglobine, soit 1 gr. 60. Le taux de l'urée, vingt-quatre heures après l'injection, était de 0 gr. 60.

Le troisième jour, l'animal rendit 1.700 cc. d'urines légèrement brunâtres, ne contenant que des traces d'albumine. Le taux de l'azotémie fut ce jour-là de 0 gr. 52.

Voici les volumes d'urines émises et les quantités d'urée sanguine trouvées pendant les huit jours qui suivirent l'injection d'hémoglobine :

Jour	Volume urines	Urée sanguine
Premier jour		0,23 (avant)
Second jour	1060 cc.	0,60
Troisième jour	1700 cc.	0,52
Quatrième jour	600 cc.	0,35
Cinquième jour	1100 cc.	0,45
Sixième jour	1240 cc.	0,40
Septième jour	980 cc.	0,40
Huitième jour	1200 cc.	0,42
Onzième jour	1100 cc.	0,48

L'animal se montra peu entrain pendant plusieurs jours, bien qu'il mangeât régulièrement sa soupe.

Des examens complets de sang et d'urines et diverses épreuves fonctionnelles furent effectuées cinq jours et onze jours après l'injection d'hémoglobine. On en trouvera les résultats dans les tableaux ci-dessous :

Analyses d'urines

	Normal	5 jours après	11 jours après
Albumine	0,5 ‰	0,60 ‰	0,12 ‰
Albumoses	0	0	0
Glucose	0	0	0
Acétone	0	0	0
Urobiline	0	0	0
Pigments biliaires	0	0	0
Sels biliaires	0	0	0
Indican	0	0	0
Scatol	0	0	0
Urée	14,5	25	17,2
Chlorures	5	3,8	5,1
Coef. de Maillard	0,05	0,04	0,05
Créatine	0,20	0,10	0,10
Créatinine	0,60	0,90	0,70
N. résiduel	0,90	1,20	1,05
Polypeptides	0	0	0
Ac. aminés + NH ³	0,60	0,70	0,55
N. non protéique	7,65	12,85	9,05
Acide urique	0,12	0,10	0,15
Cylindres	0	hémat.	0

Analyses de sang

	Normal	5 jours après	11 jours après
Cl. total	2,89 ‰	2,90 ‰	2,85 ‰
Cl. plasmatique	3,64	3,60	3,64
Cl. globulaire	2,01	2,08	2,09
Rap. Cl. Gl./Pl.	0,55	0,57	0,56
Cholestérol	1,50	1,55	1,50
Lipémie	5,80	6	5,80
Bilirubine	0	0	0
Urée (xanth.)	0,23	0,54	0,48
Protéines totales	65,2	65,8	62,50
Serine	42,1	44,1	36,40
Globuline	23,1	21,7	26,10
Rap. Ser./Glob.	1,82	2,03	1,39

	Normal	5 jours après	11 jours après
Polypeptides	0,020 ‰	0,029 ‰	0,027 ‰
Ac. aminés + NH ³	0,041	0,072	0,074
N. non protéique	0,22	0,50	0,37
Acide urique	0,012	0,012	0,011
Créatine	traces	traces	traces
Créatinine	0,016	0,021	0,020
N. résiduel	0,11	0,25	0,15
Fibrine	7,50	7,75	7,25
N. amin. total	0,036	0,062	0,063

Epreuves fonctionnelles

	Normal	5 jours après	11 jours après
P. S. P.	72 p. 100	49 p. 100	52 p. 100
Constante Ambard	0,06	0,15	0,14

Rose bengale :

5 minutes	7 milligr.	7 milligr.	7 milligr.
15 minutes	2 milligr.	1 milligr.	2 milligr.
30 minutes	0 milligr.	0 milligr.	0 milligr.

Galactosurie provoquée :

NORMAL			
	Volume	Taux p. 1000	Qu. élim.
2 heures	210 cc.	15	3 gr. 15
4 heures	70 cc.	7	0 gr. 49
10 heures	450 cc.	0	0 gr.
24 heures	610 cc.	0	0 gr.
			3 gr. 64
CINQ JOURS APRÈS			
	Volume	Taux p. 1000	Qu. élim.
2 heures	210 cc.	12,5	2 gr. 62
4 heures	40 cc.	13	0 gr. 52
10 heures	350 cc.	0	0 gr.
24 heures	760 cc.	0	0 gr.
			3 gr. 14

Il résulte de ces examens que l'animal a présenté le deuxième jour un peu d'élévation de l'urée sanguine, valeur qui a diminué par la suite, mais sans revenir complètement à la normale, en douze jours. Le taux dans le sang de l'azote non protéique, des polypeptides, de l'azote aminé total, de la créatinine, de l'azote résiduel se sont montrés légèrement augmentés le cinquième jour, mais étaient tous à peu près

revenus à la normale au onzième jour. Par contre, la diminution de l'élimination de la P. S. P. et l'élévation de la constante d'Ambard existaient encore à ce moment. Quant à l'épreuve de la diurèse, elle se montra normale.

Il y a d'ailleurs lieu de remarquer que, contrairement à ce que nous avons vu chez tous les chiens présentant des néphrites hémoglobinuriques, le cours des urines n'a pas subi de grand changement chez ce chien, si ce n'est pendant les premières vingt-quatre heures, puisque, dès le lendemain, il rejeta plus d'un litre et que l'élimination du pigment se termina ce jour-là. Cette anomalie nous incite à penser qu'un élément toxique s'est, chez cet animal, surajouté à celui de l'hémoglobine; et la présence d'éther encore en quantité appréciable dans la solution injectée et le fait que celle-ci n'a pas été filtrée sur filtre stérilisant ont sans doute contribué à léser momentanément les reins.

En résumé, chez ce chien soumis à une injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien et de même composition minérale, mais incomplètement déséthérisée, et non filtrée sur filtre Seitz stérilisant, nous avons vu survenir une néphrite azotémique légère et passagère, sans troubles importants de la diurèse.

OBSERVATION XXX

Chien 102. — Poids 9 kg. 600. Les analyses complètes d'urines et de sang ayant été effectuées à l'état normal ainsi que les épreuves fonctionnelles habituelles, on saigna ce chien de 250 cc., soit 30 cc. de sang par kilogramme de poids du corps, en vingt-cinq minutes; et on lui injecta ensuite 130 cc. d'une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien et de même composition minérale. Cette solution fut filtrée sur filtre Seitz filtrant mais non sur filtre stérilisant.

Le chien, qui était assez abattu par la saignée, recouvra son énergie au cours de l'injection d'hémoglobine. Mis à terre, il

allait et venait, avec son entrain habituel. Durant la journée, cependant, il ne mangea pas et n'urina pas. Mais pendant la nuit suivante, il émit 400 cc. d'urines contenant 0,4 p. 100 d'hémoglobine.

Le lendemain, le chien, qui était en parfait état, urina au cours de la journée une première fois 400 cc. d'une urine contenant 1 gr. 15 p. 100 d'hémoglobine, puis 900 cc. d'une urine brunâtre sans hémoglobine, mais présentant une notable quantité de pigments biliaries et 0,20 d'albumine. L'urée sanguine atteignait ce jour-là 0 gr. 40.

On trouvera ci-dessous les taux de l'urée du sang trouvés chaque jour et les volumes d'urines émises quotidiennement pendant une dizaine de jours après l'expérience.

Jours	Volume d'urines	Urée sanguine
Premier jour (nuit)....	400 cc.	0,27 (avant)
Second jour	1700 cc.	0,40
Troisième jour	780 cc.	0,38
Quatrième jour	1200 cc.	0,30
Cinquième jour	950 cc.	0,30
Sixième jour	980 cc.	0,30
Septième jour	1100 cc.	0,30
Huitième jour	980 cc.	0,25

Des analyses complètes de sang et d'urines furent effectuées le troisième et le neuvième jours après l'injection. Les résultats de ces analyses sont mentionnés ci-joint.

Analyses d'urines

	Normal	3 jours après	9 jours après
Glucose	0 ‰	0 ‰	0 ‰
Chlorures	6,1	5,2	5,8
Pigments biliaries	0	0	0
Urobiline	0	0	0
Sels biliaries	0	0	0
Urée	18,6	15,2	14,8
Coef. de Maillard	0,04	0,04	0,05
Albumoses	0	0	0
Albumine	0,05	0,06	0,08
N. résiduel.	0,85	0,95	1
Polypeptides	0	0	0
Ac. aminés + NH ²	0,50	0,45	0,51
N. non protéique	9,50	8,05	7,9

	Normal	3 jours après	9 jours après
Acide urique	0,15 ‰	0,15 ‰	0,13 ‰
Créatine	0,20	0,10	0,20
Créatinine	0,40	0,70	0,60
Indican	0	0	0
Scatol	0	0	0
Acétone	0	0	0
Cylindres	0	0	0

Analyses de sang

	Normal	3 jours après	9 jours après
Cl. total	2,92 ‰	2,90 ‰	2,92 ‰
Cl. plasmatique	3,79	3,75	3,75
Cl. globulaire	2,08	2,06	2,05
Rap. Cl. Gl./Pl.	0,54	0,54	0,54
Cholestérol	1,50	1,50	1,55
Lipémie	5,80	5,80	5,80
Bilirubine	0	0	0
Urée	0,27	0,37	0,28
Protéines totales	68,3	69,1	68,4
Serine	41,5	42	41
Globuline	27,8	27,1	27,4
Rap. Ser./Glob.	1,48	1,54	1,50
Polypeptides	0,022	0,024	0,025
Ac. amin. + NH ³	0,046	0,054	0,051
N. non protéique	0,23	0,32	0,25
Acide urique	0,011	0,012	0,011
Créatine	traces	traces	traces
Créatinine	0,015	0,017	0,015
N. résiduel	0,11	0,15	0,12
Fibrine	7	7,5	7,25
N. amin. total	0,039	0,048	0,044

Examens fonctionnels

	Normal	3 jours après	9 jours après
P. S. P.	66 p. 100	69 p. 100	67 p. 100
Constante Ambard	0,06	0,11	0,06

Galactosurie provoquée :

Normal			
	Volume	Taux p. 1000	Qu. elim.
2 heures	220 cc.	12	2 gr. 64
4 heures	50 cc.	10	0 gr. 50
10 heures	500 cc.	0	0 gr.
24 heures	600 cc.	0	0 gr.
			3 gr. 14

3 jours après			
	Volume	Taux p. 1000	Qu. élim.
2 heures	200 cc.	11	2 gr. 20
4 heures	35 cc.	14	0 gr. 49
10 heures	450 cc.	0	0 gr.
24 heures	680 cc.	0	0 gr.
			2 gr. 69

Rose bengale :	Normal	3 jours après
5 minutes	8 milligrammes	7 milligrammes
15 minutes	2 milligrammes	2 milligrammes
30 minutes	0 milligramme	0 milligramme

On voit d'après ces analyses que l'animal n'a présenté aucun trouble important du fonctionnement de ses reins, en dehors d'une petite élévation de l'urée sanguine dont le taux a atteint 0 gr. 40 le lendemain de l'injection. Cette élévation s'est atténuée en quelques jours. Elle ne s'est d'ailleurs pas accompagnée de rétentions des autres déchets azotés et dans les urines on ne put rien décèler d'anormal.

En résumé, l'administration à ce chien d'une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, non filtrée sur filtre stérilisant, a paru moins l'incommoder que le chien précédent. L'animal resta quelques heures sans manger ni uriner, et le lendemain il présentait une très légère élévation du taux de son urée sanguine sans autre symptôme. Ces menus troubles disparurent d'ailleurs aussitôt.

b) Solutions filtrées sur filtres stérilisants :

OBSERVATION XXXI

Chien 74. — Poids 13 kilogrammes. Les différentes épreuves et examens habituels ayant été effectués, et le chien ayant été reconnu normal, on pratiqua, le 18 octobre 1938, une saignée de 390 cc. en deux temps espacés de vingt-cinq minutes, soit 30 cc. par kilogramme de poids du corps; et on injecta aussitôt après, en trente-cinq minutes, 200 cc. d'une solution d'hémo-

globine à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale et filtrée sur filtre Seitz stérilisant.

Dès le début de l'injection, le rythme respiratoire s'accrut et s'amplifia; le chien, calme jusque-là, commença à se débattre. Ses téguments se recolorèrent. Mis à terre, l'animal se montra alerte et vigoureux. Il mangea immédiatement toute sa pâtée. Il n'urina pas cependant de toute la journée. Mais il émit durant la nuit 780 cc. d'une urine contenant 7 gr. 02 d'hémoglobine et en outre de nombreux débris d'hématies, mais pas de cylindres.

Le lendemain, le chien, qui était toujours en excellent état, urina au cours de la journée 380 cc. d'une urine ne renfermant plus d'hémoglobine, mais fortement brunâtre, riche en pigments biliaires. L'examen microscopique montra toujours la présence d'hématies, mais l'absence de cylindres.

Le surlendemain, l'animal urina 1.530 cc. d'une urine contenant des traces d'albumine, un peu de pigment biliaire, mais pas de cylindre.

Le quatrième jour, le chien présenta une nette polyurie avec élimination de 2.375 cc. d'une urine ne contenant pas d'éléments anormaux, si ce n'est quelques cylindres granuleux.

On trouvera ci-dessous les volumes d'urines émises et les taux d'urée sanguine trouvés chaque jour, ainsi que les résultats des diverses épreuves fonctionnelles effectuées avant et cinq jours après l'épreuve.

	Volume	Urée sanguine
Premier jour	0 cc.	0,37 (avant)
Second jour	1160 cc.	0,40
Troisième jour	1530 cc.	0,35
Quatrième jour	2375 cc.	0,35
Cinquième jour	1970 cc.	0,30
Sixième jour	1420 cc.	0,35
Septième jour	1700 cc.	
Huitième jour	1050 cc.	
Deuxième semaine		0,35
Troisième semaine		0,25
Quatrième semaine		0,40
Cinquième semaine ...		0,40

Examens fonctionnels

	Avant	Après
Constante Ambard	0,08	0,09
P. S. P.	72 p. 100	62 p. 100

Rose bengale :

5 minutes	6 milligrammes	5 milligrammes
15 minutes	1 milligramme	2 milligrammes
30 minutes	0 milligramme	0 milligramme

Galactosurie provoquée :

AVANT			
	Volume	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	250 cc.	15	3 gr. 75
4 heures	30 cc.	11,25	0 gr. 33
10 heures	1250 cc.	0	0 gr.
24 heures	600 cc.	0	0 gr.
			4 gr. 08
APRÈS			
	Volume	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	280 cc.	11,80	3 gr. 30
4 heures	80 cc.	8,20	0 gr. 65
10 heures	600 cc.	0	0 gr.
24 heures	800 cc.	0	0 gr.
			3 gr. 95

On voit d'après ces résultats que ce chien saigné puis traité par une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale, et filtrée sur filtre Seitz stérilisant, n'a présenté aucun trouble apparent du fonctionnement des reins en dehors de la suspension habituelle de la diurèse pendant quelques heures. Le seul signe à relever par ailleurs fut la présence passagère de rares cylindres hyalins dans les urines.

OBSERVATION XXXII

Chien 75. — Poids 9 kilogrammes. Les divers examens habituels pratiqués chez ce chien ne nous ayant révélé rien d'anormal, on fit un matin une saignée de 270 cc., en deux temps espacés de quinze minutes, soit 30 cc. par kilogramme; et on lui injecta, aussitôt après, 135 cc. d'une solution d'hémoglobine

à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Au cours de l'injection, le rythme respiratoire s'amplifia et se régularisa, les muqueuses se recolorèrent. Mis à terre, le chien se comporta comme un chien normal, quoiqu'il fut moins turbulent que d'habitude. Il mangea la viande de sa soupe. Il n'urina pas de la journée.

Il n'émit pas non plus d'urines durant la nuit suivante; mais ce fait est dû sûrement à un phénomène de rétention psychique, ce chien n'urinant pas lorsqu'il était en cage. On dut le sortir de celle-ci, le lendemain, à plusieurs reprises et le faire marcher pour l'amener à vider sa vessie. C'est ainsi qu'il émit une première fois 290 cc. d'urine fortement colorée, contenant 0,8 d'hémoglobine sous forme de méthémoglobine, ce qui indique qu'elle avait stagné dans la vessie. Il urina encore, deux heures après, 330 cc. d'urine à peine colorée, puis de nouveau 470 cc.

On trouvera ci-joint les résultats des dosages d'urée et des analyses d'urines pratiquées quotidiennement pendant quelques jours.

Dosages d'urée sanguine

Avant	2 ^e jour	3 ^e jour	4 ^e jour	5 ^e jour
0,30	0,30	0,32	0,30	0,35

Analyses d'urines

	2 ^e jour			
Volume	290 cc.	330 cc.	470 cc.	
HbO	0,8 %	0,1 %	0	
Urobiline	0	0	0	
Pigments biliaires	0	0	0	
Albumine			0,02	
Cylindres	0	0	0	
Hématies	+++	+	+	
	3 ^e jour	4 ^e jour	5 ^e jour	6 ^e jour
Volume	1540 cc.	1380 cc.	1230 cc.	890 cc.
HbO	0	0	0	0
Urobiline	0	0	0	0
Pigments biliaires	0	0	0	0
Albumine	traces	traces	traces	traces
Cylindres	0	0	0	0
Hématies	+	+	+	+

En résumé, ce chien saigné puis traité par une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale, et filtrée sur filtre Seiz stérilisant, n'a présenté, en dehors d'une diurèse légèrement retardée le premier jour, aucun trouble du fonctionnement des reins, et notamment pas d'augmentation du taux de l'urée sanguine et pas de cylindrurie.

OBSERVATION XXXIII

Chien 103. — Poids 13 kg. 5. Les analyses complètes de sang et d'urines ayant été effectuées à l'état normal ainsi que les épreuves fonctionnelles, et le chien ayant été reconnu normal, on saigna cet animal un matin de 410 cc. de sang en vingt minutes; et on lui injecta ensuite, en vingt-cinq minutes, 205 cc. d'une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. L'animal supporta très bien l'injection. Mis à terre, il se comporta comme un chien normal. Il mangea partiellement sa soupe au cours de la journée. Il urina, sept heures après l'injection, 450 cc. d'une urine contenant 0,5 p. 100 d'hémoglobine. Il n'urina pas durant la nuit suivante.

Le lendemain, le taux de l'urée sanguine était de 0,30. Le chien émit au cours de la journée 750 cc. d'urines contenant encore 0,3 p. 100 d'hémoglobine, un peu de pigments biliaires, mais pas de cylindres. Le troisième jour, le taux de l'urée sanguine était de 0,35 et le volume urinaire de 1.100 cc. Ces urines étaient claires et limpides. Elles ne contenaient plus de pigments biliaires ni de cylindres.

Les jours suivants, les volumes urinaires émis furent successivement de 1.050, 980 et 1.000 cc; le taux de l'urée sanguine fut constamment égal à 0,35. Le chien est encore vivant et en excellent état.

Les résultats des examens d'urines, de sang et ceux des épreuves fonctionnelles sont consignés ci-contre.

Examens des urines

	Normal	4 jours après	9 jours après
Glucose	0 ‰	0 ‰	0 ‰
Chlorurés	5,1	3,2	6,1
Pigments biliaires	0	0	0
Urobiline	0	0	0
Sels biliaires	0	0	0
Urée	8,1	16,1	15,8
Coef. de Maillard	0,04	0,04	0,04
Albumoses	0	0	0
Albumine	0	0,09	0,07
N. résiduel	0,95	1,05	0,90
Polypeptides	0	0	0
Ac. amin. + NH ³	0,25	0,40	0,35
N. non protéique	4,20	8,6	8,25
Acide urique	0,16	0,15	0,15
Créatine	0,05	0,20	0,10
Créatinine	0,40	0,50	0,40
Indican	0	0	0
Scatol	0	0	0
Acétone	0	0	0
Cylindres	0	0	0

Examens de sang

	Normal	4 jours après	9 jours après
Cl. total	3,03 ‰	3,05 ‰	3,05 ‰
Cl. plasmatique	3,82	3,85	3,80
Cl. globulaire	2,12	2,10	2,07
Rap. Cl. Gl./Pl.	0,55	0,54	0,54
Lipémie	6,10	6,20	6
Bilirubine	0	0	0
Urée (xanth.)	0,19	0,26	0,23
Protéines totales	67,2	68,4	66,4
Sérine	40,1	41,6	40,8
Globuline	27,1	26,8	25,6
Rap. Ser./Glob.	1,47	1,55	1,59
Polypeptides	0,024	0,024	0,022
Ac. amin. + NH ³	0,051	0,055	0,050
N. non protéique	0,19	0,38	0,23
Acide urique	0,010	0,011	0,012
Créatine	traces	traces	traces
Créatinine	0,012	0,013	0,013
N. résiduel.	0,10	0,26	0,12
Fibrine	7	7,75	7,50
N. amin. total	0,042	0,047	0,044
Cholestérol	1,55	1,60	1,50

Examens fonctionnels

	Avant	4 jours après	9 jours après
P. S. P.	68 p. 100	69 p. 100	68 p. 100
Constante Ambard	0,04	0,07	0,06

Rose bengale :

5 minutes	7 milligrammes	7 milligrammes
15 minutes	1 milligramme	1 milligramme
30 minutes	0 milligramme	0 milligramme

Galactosurie provoquée :

	Avant		
	Volume	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	210 cc.	11,5	2 gr. 41
4 heures	35 cc.	11	0 gr. 38
10 heures	400 cc.	0	0 gr.
24 heures	700 cc.	0	0 gr.
			2 gr. 79
	4 jours après		
	Volume	Taux p. 1000	Quant. élim.
2 heures	220 cc.	11,2	2 gr. 47
4 heures	45 cc.	12	0 gr. 54
10 heures	390 cc.	0	0 gr.
24 heures	650 cc.	0	0 gr.
			3 gr. 01

En résumé, cet animal, après avoir subi une injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale, et filtrée sur filtre Seitz stérilisant, n'a présenté aucun symptôme anormal en dehors de l'hémoglobinurie.

OBSERVATION XXXIV

Chien 104. — Poids 12 kilogrammes. L'animal ayant été reconnu normal après divers examens, on le saigna, un soir, de 360 cc. de sang, soit 30 cc. par kilogramme de poids du corps, en vingt-cinq minutes, et on lui injecta ensuite 180 cc. d'une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Après l'injection, le chien saigna abondamment et il fallut ligaturer la veine fémoro-

rale, ce qui entraîna par la suite la présence à cette patte d'un léger œdème. Mis à terre, l'animal refusa de boire et de manger. Il avait l'air assez fatigué et marchait difficilement. Durant la nuit suivante, c'est-à-dire durant les premières heures suivant l'injection, il émit 800 cc. d'un liquide rosé constitué par un mélange d'urines et de mucosités. L'urée sanguine fut le lendemain de l'opération de 0,45. L'animal, qui n'urinait jamais en cage, n'émit pas d'autres urines dans la journée.

Le surlendemain, le taux d'urée sanguine était de 0,35. On promena le chien qui élimina d'un seul coup 500 cc. d'une urine très fortement colorée en rouge brunâtre, contenant 0,7 p. 100 d'hémoglobine sous forme de méthémoglobine, ce qui indique qu'elle avait séjourné dans la vessie. L'échantillon contenait aussi un peu de pigments biliaires. Le chien paraissait souffrir de sa plaie de l'aîne et avait la jambe enflée. Il marchait avec peine et ne mangeait qu'en partie sa soupe.

Les jours suivants, il n'urina jamais dans sa cage; et il fallut toujours le promener pour récolter ses urines. Les volumes urinaires émis furent d'ailleurs peu considérables durant les premiers jours. Il est vrai que le chien buvait peu. Sa plaie infectée le faisait souffrir et il paraissait peu en train. Cependant l'urée sanguine resta toujours à un taux normal. On ne constata dans aucune des urines émises la présence de cylindres, mais on nota par contre celle d'assez nombreuses hématies. Au bout de quelques jours, l'état local et l'état général se rétablirent et le chien redevint d'allure tout à fait normale.

Voici les volumes d'urines émises et les taux d'urée sanguine trouvés dans les jours suivants :

	Volume urines	Urée sanguine
Second jour	800 cc.	0,45
Troisième jour	500 cc.	0,35
Quatrième jour	490 cc.	0,30
Cinquième jour	560 cc.	0,30
Sixième jour	740 cc.	0,28
Septième jour	930 cc.	0,30

Les résultats des examens d'urines et de sang sont mentionnés dans les tableaux ci-dessous :

Examens des urines

	Normal	4 jours après	9 jours après
Glucose	0 ‰	0 ‰	0 ‰
Chlorures	6,2	4,7	4,9
Pigments biliaires	0	0	0
Urobiline	0	0	0
Sels biliaires	0	0	0
Urée	11,2	6,6	7,9
Coef. de Maillard	0,05	0,05	0,06
Albumoses	0	0	0
Albumine	0,04	0,06	0,08
N. résiduel.	0,85	1,05	0,95
Polypeptides	0	0	0
Ac. amin. + NH ³	0,35	0,20	0,35
N. non protéique	6,05	4,15	4,65
Acide urique	0,10	0,12	0,15
Créatine	0,15	0,20	0,10
Créatinine	0,45	0,60	0,40
Indican	0	0	0
Scatol	0	0	0
Acétone	0	0	0
Cylindres	0	0	0

Examens de sang

	Normal	4 jours après	9 jours après
Cl. total	2,92 ‰	2,90 ‰	3,03 ‰
Cl. plasmatique	3,72	3,78	3,82
Cl. globulaire	2	2,02	2,08
Rap. Cl. Gl./Pl.	0,53	0,53	0,54
Cholestérol	1,50	1,50	1,50
Lipémie	5,80	5,60	6
Bilirubine	0	0	0
Urée (xanth.)	0,22	0,27	0,21
Protéines totales	65,7	64,9	67,50
Serine	39,2	38,6	40,80
Globuline	26,5	26,3	26,70
Rap. Ser./Glob.	1,47	1,49	1,52
Polypeptides	0,023	0,025	0,022
Ac. aminés + NH ³	0,050	0,054	0,051
N. non protéique	0,21	0,37	0,21
Acide urique	0,012	0,011	0,011
Créatine	traces	traces	traces
Créatinine	0,013	0,014	0,012
N. résiduel.	0,11	0,24	0,011
Fibrine	7,5	8,25	8,25
N. amin. total	0,043	0,046	0,044

Epreuves fonctionnelles

Rose bengale :

5 minutes	6 milligrammes.
15 minutes	2 milligrammes.
30 minutes	0 milligramme.

On voit d'après ces chiffres qu'après l'injection intra-veineuse d'une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale, et filtrée sur filtre Seitz stérilisant, ce chien, qui avait été préalablement saigné, ne présenta que des troubles passagers de la diurèse, sans autre signe de néphrite. Il faut signaler cependant l'élévation transitoire de l'azote résiduel dans le sang. Il est à remarquer que cet animal dut subir une ligature de la veine fémorale, que le foyer opératoire suppura et que ce chien resta plusieurs jours sans s'alimenter beaucoup. Il est probable que cet incident opératoire et ses suites inflammatoires ont influé sur son état. En tout état, les tableaux ci-dessus montrent que le chien n'a présenté aucune atteinte sérieuse du côté des reins.

4° Expériences conduites avec des solutions d'hémoglobine de chien à 6,5 p. 100 rendues isotoniques au plasma sanguin de chien, et de même composition minérale que ce dernier milieu.

Les expériences précédentes, conduites avec de l'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100 dans les conditions de préparations indiquées ci-dessus, nous ont donné dans l'ensemble, du point de vue fonctionnel, des résultats apparemment excellents. Nous avons voulu voir si l'hémoglobine de chien, employée de manière analogue, serait supportée de la même façon. Nous avons donc préparé des solutions d'hémoglobine de chien à 6,5 p. 100, isotoniques au plasma sanguin de chien et de même composition miné-

rale que ce milieu. Nous rappelons que de telles préparations ont les propriétés suivantes :

Δt	0,58
Tension superficielle	68-70
Viscosité	0,0086-0,0075
P. O. C.	36-40
Ca	0,109
P ² O ⁵	0,112
K	0,70
Na	3,60-3,65
Cl	5,15-5,30

Les solutions furent filtrées sur filtres Seitz. Elles ont été administrées à deux chiens.

OBSERVATION XXXV

Chien 78. — Poids 17 kg. 1. Les divers examens préalables habituels ayant été pratiqués, on saigna cet animal un matin de 510 cc. en quarante minutes, soit 30 cc. par kilogramme de poids du corps, et on lui injecta ensuite, en vingt-six minutes, 265 cc. d'une solution d'hémoglobine de chien à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Après l'opération, le chien, qui était assez apathique après la saignée, se montra plus vigoureux. Il ne mangea cependant qu'une partie de sa soupe et émit, une demi-heure après l'injection, des selles muqueuses, mais non sanguinolentes. Il n'urina pas de toute la journée. Durant la nuit, il émit 710 cc. d'urines fortement colorées en brun rougeâtre. La quantité d'hémoglobine présente était de 0,35 p. 100, soit 2 gr. 48. A l'examen microscopique, on constata la présence de nombreuses hématies et l'absence de cylindres.

Le lendemain, le chien émit une première fois, au cours de la journée, 950 cc. d'urines contenant 0,1 p. 100 d'hémoglobine, soit 0 gr. 95, de couleur acajou, contenant une forte quantité de pigments biliaires, de très nombreuses hématies, mais pas de cylindres. L'animal élimina une deuxième fois 870 cc. d'urines présentant des traces d'hémoglobine, avec une très

faible quantité de pigments biliaires et de rares cylindres hyalins. Le chien était en parfait état et mangea toute sa ration.

Le surlendemain, le chien émit 2.100 cc. d'urines qui ne contenaient ni hémoglobine, ni pigments biliaires, ni cylindres, mais un peu d'urobiline et quelques hématies.

Voici les taux d'urée sanguine observés à diverses reprises chez cet animal et les volumes d'urines émises pendant quelques jours après l'opération. L'urobilinurie persista jusqu'au cinquième jour.

	Volume d'urines	Urée sanguine
Premier jour	710 cc.	0,20
Second jour	1820 cc.	0,25
Troisième jour	2100 cc.	0,20
Quatrième jour	2250 cc.	0,20
Cinquième jour	2650 cc.	0,25
Sixième jour	220 cc.	0,25
Deuxième semaine		0,30
Troisième semaine		0,30
Quatrième semaine		0,20
Cinquième semaine		0,25
Sixième semaine		0,25
Septième semaine		0,22

En résumé, cet animal ne présenta, après l'administration d'une solution d'hémoglobine de chien à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, et de même composition minérale, aucun trouble appréciable de son appareil rénal.

OBSERVATION XXXVI

Chien 84. — Poids 21 kilogrammes. La recherche des éléments anormaux dans l'urine et le dosage de l'urée sanguine ayant été effectués, on saigna cet animal de 645 cc. de sang en quarante minutes, soit de 30 cc. par kilogramme de poids du corps, et on lui injecta immédiatement après, en trente minutes, 325 cc. d'une solution d'hémoglobine de chien à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale et filtrée sur filtre Seitz stérilisant. Mis à terre, l'animal était en excellent état, quoique un peu abattu.

Il ne mangea une partie de sa soupe que deux heures après, mais il l'acheva au cours de la journée. Ce jour-là, il n'émit pas d'urines.

Durant la nuit, il émit 1.080 cc. d'urines fortement colorées, contenant 0,6 p. 100 d'hémoglobine, soit 6 gr. 04 de ce pigment. Ces urines ne présentaient ni pigments biliaires, ni urobiline, ni cylindres.

Le lendemain, l'animal était en excellent état. Il mangea normalement sa ration. Il émit d'abord 1.000 cc. d'urines ne contenant que des traces indosables d'hémoglobine, mais présentant des pigments biliaires. Le sang prélevé à ce moment contenait d'ailleurs des traces dosables de bilirubine. On constata en outre la présence de 0,20 d'albumine. Au cours de la même journée, le chien émit encore 980 cc. d'une urine ne contenant pas de traces d'hémoglobine, mais encore un peu de pigments biliaires. On n'observa pas de cylindres. Le volume total urinaire émis en vingt-quatre heures depuis l'opération fut de 3.060 cc. Le taux de l'urée sanguine resta absolument normal.

Le surlendemain, le chien émit 1.580 cc. d'une urine absolument normale, tant au point de vue chimique qu'au point de vue microscopique. Le taux de l'urée sanguine était de 0,20.

Voici les taux d'urée sanguine observés à diverses reprises chez cet animal et les volumes d'urines émises pendant quelques jours après l'opération :

	Volume d'urines	Urée sanguine
Premier jour	1080 cc.	0,25 (avant)
Second jour	1980 cc.	0,30
Troisième jour	1580 cc.	0,30
Quatrième jour	1230 cc.	0,25
Cinquième jour	2610 cc.	0,30
Sixième jour	1750 cc.	0,25
Deuxième semaine		0,25
Troisième semaine		0,30
Quatrième semaine		0,25
Cinquième semaine ...		0,25
Sixième semaine		0,25
Septième semaine		0,25

En résumé, cet animal, qui reçut en injection intra-

veineuse de l'hémoglobine à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale et filtrée sur filtre Seitz, n'a présenté aucun trouble de son appareil rénal.

II. — ANALYSES DES DIVERS SYMPTÔMES PRÉSENTÉS PAR LES ANIMAUX TRAITÉS, APRÈS SAIGNÉE, PAR L'ADMINISTRATION INTRAVEINEUSE, A DOSE THÉRAPEUTIQUE, DE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE A 7 OU 6,5 P. 100.

1° *Comportement général des animaux*

Il résulte des observations précédentes que l'administration, par voie veineuse, à des chiens venant de subir un prélèvement de 30 cc. de sang par kilogramme de poids du corps, d'une quantité moitié moindre d'une solution d'hémoglobine de cheval ou de chien à 6,5 ou 7 p. 100, est remarquablement supportée par ces animaux, qui ne manifestent au cours de l'injection aucun malaise appréciable. Nous verrons au contraire ultérieurement qu'un tel traitement exerce les plus heureux effets pour combattre les perturbations apportées dans l'hématose par la saignée.

Aussitôt après la fin de l'expérience, les animaux de ce groupe se sont, en général, montrés d'allure tout à fait normale. Ils allaient et venaient avec entrain, et la plupart ont absorbé leur soupe peu après, en totalité ou en partie.

Sauf dans un cas (chien 104, observation XXXIV), où des accidents d'ordre infectieux au niveau du foyer opératoire ont entraîné pendant quelques jours une certaine apathie avec anorexie, et dans un autre cas, sur lequel nous reviendrons plus loin (chien 101, observation XXIX), les animaux conservèrent par la suite un excellent état général. Ils présentèrent un appétit régulier et une vigueur tout à fait normale. Ils ne semblèrent souffrir d'aucun trouble.

2° *Etude des fonctions rénales*

Nous avons vu que les solutions d'hémoglobine à 14 p. 100 provoquaient dans tous les cas des néphrites, parfois mortelles, le plus souvent importantes, exceptionnellement bénignes.

Les solutions à 3,5 p. 100 sont dans l'ensemble moins nocives; et il peut arriver que des chiens les supportent sans présenter d'accidents sérieux. Mais le fait est inconstant et nous avons vu plusieurs animaux, soumis à une injection intraveineuse de telles solutions, présenter par la suite des néphrites cliniquement graves ou modérées.

Avec les solutions d'hémoglobine à 7 ou 6,5 p. 100, les résultats furent tout différents et beaucoup plus réguliers. Sur quatorze chiens soumis à une injection intraveineuse de ces solutions, deux seulement ont manifesté des signes cliniques francs, mais d'ailleurs passagers, de souffrance des reins. Les douze autres n'ont présenté aucun trouble sérieux, en dehors de quelques menus signes que nous allons rapporter.

Nous reviendrons plus loin sur les deux cas aberrants. Relatons tout d'abord la façon habituelle dont les choses se sont passées, en nous basant pour cela sur les observations des douze animaux qui ont réagi de manière à peu près identique.

Nous avons en général pratiqué nos saignées suivies des injections d'hémoglobine dans le courant de la matinée, l'expérience étant finie vers la fin de celle-ci. Sauf dans deux cas, relatifs aux chiens 59 (observation XXIV) et 103 (observation XXXIII) qui émirent déjà dans l'après-midi des urines chargées d'hémoglobine, les animaux n'urinèrent pas dans la journée; mais la plupart d'entre eux le firent dans la nuit suivante ou, au plus tard, au sortir de leur cage, le lendemain matin. Comme nous avons également une opsiurie du même ordre, quoique peut-être un peu

moins nettement cependant, chez des chiens saignés de même manière, mais traités ultérieurement par injection de sérum physiologique ou transfusion de sang total, nous ne croyons pas que cette opsiurie soit à mettre exclusivement sur le compte de l'hémoglobine. La déperdition de sang, à moitié compensée seulement par l'injection consécutive, doit avoir eu une part aussi dans la production du phénomène. Il faut d'ailleurs tenir compte de ce fait que beaucoup de chiens n'urinent pas lorsqu'ils sont en cage et nous avons vu bien des fois nos animaux en expérience émettre d'un seul coup, lorsqu'on les promenait, d'importantes quantités d'urines noires, contenant de l'hémoglobine transformée en méthémoglobine du fait d'un séjour prolongé dans la vessie.

Dès le lendemain de l'expérience, tous nos chiens traités par des solutions d'hémoglobine à 6,5 ou 7 p. 100 éliminèrent des urines en quantité normale, se comportant ainsi d'une façon très différente des chiens ayant reçu des solutions d'hémoglobine à 14 p. 100 et de la plupart de ceux à qui furent administrées des solutions à 3,5 p. 100.

Dans dix cas sur douze, l'hémoglobinurie cessa au cours de la journée du lendemain qui suivit l'injection de pigment. Dans les deux autres cas, elle se termina le surlendemain.

La recherche quotidienne des éléments anormaux dans les urines nous montra que les petites quantités d'albumine qui existent le plus souvent dans les urines des chiens ne sont pas accrues dans les jours suivant la fin de l'hémoglobinurie, si ce n'est parfois, et d'une façon très légère, après la cessation de cette dernière, comme pour en prolonger le souvenir. Nous relaterons plus loin que nous avons observé avec fréquence, pendant un jour ou deux, la présence de pigments biliaires et d'urobiline dans les urines. Par ailleurs, dans plusieurs cas nous avons pu déceler dans le culot de centrifugation des urines, des hématies en plus ou moins grand nombre. Nous rappelons que la plupart de

nos chiens ont dû être sondés à diverses reprises pour subir les épreuves d'exploration fonctionnelle, et il est possible que l'irritation et les traumatismes produits par le passage des sondes puissent être à l'origine de ces hématuries microscopiques. Cependant, nous avons pu les observer aussi chez des animaux qui ne furent pas sondés; et nous pensons que ce phénomène peut avoir été bien des fois la traduction d'une congestion rénale.

Enfin, chez plusieurs chiens, nous avons constaté la présence dans les urines de cylindres hématiques, hyalins ou granuleux, d'une manière transitoire ou persistante.

Chez quelques-uns de nos animaux, nous avons fait des analyses très complètes des urines à diverses reprises (chien 102, observation XXX; chien 103, observation XXXIII; chien 104, observation XXXIV). Mais ces analyses ne nous ont rien révélé de particulier. L'azote au formol, l'azote résiduel, l'azote non protéique, les taux de créatine, de créatinine et d'acide urique, ceux des chlorures n'ont pas été modifiés.

Les taux d'urée sanguine, dosés régulièrement le lendemain matin de l'expérience, les animaux étant à jeun depuis la veille au soir, furent dans tous les cas trouvés dans des limites normales. Ils furent cependant, en général, un peu plus élevés qu'avant l'administration d'hémoglobine. Chez tel chien qui avait habituellement une azotémie matinale de 0,20, cette valeur atteignit 0,30, vingt-quatre heures après l'injection du pigment. Chez tel autre qui présentait ordinairement un taux d'urée sanguine de 0,30, ce taux s'éleva à 0,40. Encore cette faible ascension de l'azotémie ne fut-elle pas toujours constatée. Elle manqua notamment chez les chiens 75 (observation XXXII), 78 (observation XXXV), 84 (observation XXXVI). En tout état, elle fut toujours passagère, sinon éphémère.

Chez plusieurs chiens, nous avons pratiqué rapidement, dans les jours suivant l'expérience, en même temps que de très nombreux examens dans les urines, le dosage des

divers éléments constitutifs du sang (chien 102, observation XXX; chien 103, observation XXXIII; chien 104, observation XXXIV). Nous avons ainsi constaté que les taux de la polypeptidémie, de l'ammoniémie, de l'uricémie, de la créatininémie n'étaient pas modifiés. Chez les chiens 103 et 104, nous avons pourtant observé une augmentation très passagère de l'azote résiduel.

Enfin, pour plusieurs animaux, nous avons pratiqué avant et plus ou moins longtemps après l'expérience, les épreuves de la P. S. P. et de la diurèse provoquée, et calculé la constante d'Ambard (chiens 57, observation XXV; 58, observation XXVI; 63, observation XXVII; 102, observation XXX; 74, observation XXXI; 103, observation XXXIII), et dans tous les cas ces tests se sont toujours montrés normaux.

En définitive, chez douze de nos quatorze chiens traités par des solutions d'hémoglobine de cheval ou de chien à 6,5 ou 7 p. 100, nous n'avons observé, et encore d'une manière inconstante, qu'un minimum de petits signes de souffrance des reins du fait de l'élimination du pigment par ces organes : présence pendant quelques jours d'hématies et de cylindres dans les urines, très légère élévation du taux de l'urée pendant vingt-quatre heures après l'injection, parfois élévation passagère et modérée de l'azote résiduel dans le sang.

Dans deux cas cependant, nous avons observé des symptômes plus importants. Il s'agit des chiens 56 et 101 (observations XXIII et XXIX).

Le chien 56 ne présenta à la vérité rien de très sérieux. Cependant il n'urina pas le jour de l'expérience et n'émit que 210 cc. d'urines le lendemain, alors qu'il avait une azotémie de 0,60. Le surlendemain, il élimina 600 cc. d'urines. Le taux de l'urée sanguine était redevenu normal et le resta par la suite. Ce chien a donc fait de l'oligurie pendant deux à trois jours et une poussée d'azotémie le deuxième jour suivant l'administration de l'hémoglobine.

Le chien 101 a présenté des symptômes un peu plus importants et qui furent étudiés plus à fond. Chose curieuse, cet animal n'a pas eu de troubles notables de la diurèse, puisque douze heures après l'injection de pigment sanguin il émit 260 cc. d'urines et que dans les douze heures suivantes il élimina à nouveau 800 cc. d'urines, qui furent les dernières à présenter de l'hémoglobine. Les jours suivants, le volume des urines fut constamment normal.

Cependant, le lendemain matin de l'expérience, le taux de l'urée sanguine était à 0,60; le surlendemain, à 0,52, et il resta plus de douze jours au-dessus de 0,40, alors qu'il était auparavant autour de 0,25.

Des recherches plus étendues pratiquées le cinquième jour après l'injection d'hémoglobine montrèrent dans les urines un taux d'albumine de 0,60, une légère augmentation de la créatine, de l'azote résiduel, de l'azote non protéique et la présence de cylindres; et dans le sang, une augmentation de l'azote au formol, de l'azote aminé total, de la créatinine et de l'azote résiduel. Le taux d'élimination de la P. S. P. était tombé de 72 à 49 p. 100, et la constante d'Ambard était passée de 0,06 à 0,15. Par contre, l'épreuve de la diurèse donna des résultats normaux.

Les mêmes recherches pratiquées douze jours après l'expérience ne montrèrent presque plus rien d'anormal, en dehors d'une constante d'Ambard encore élevée et d'une élimination de la P. S. P. encore un peu diminuée.

Cet animal a donc présenté pendant quelques jours des signes indubitables d'une néphrite d'ailleurs peu prononcée et de courte durée.

Le chien 56 a reçu une solution d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100, isotonique au plasma sanguin de cheval, et le chien 101 une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, isotonique à ce plasma et de même constitution chimique que lui. Comme par ailleurs de nombreux animaux furent traités par l'un ou l'autre type de ces deux solutions, on ne peut incriminer à l'origine des troubles présentés par

ces animaux ni un défaut de tonicité, ni une insuffisance en sels minéraux.

Nous ne croyons pas d'ailleurs que ces facteurs jouent un rôle primordial dans la tolérance des chiens vis-à-vis des solutions d'hémoglobine à 7 p. 100.

Il est très remarquable, par contre, que ces poussées de néphrites aient été observées chez deux des trois seuls animaux qui reçurent des solutions d'hémoglobine à 6,5 ou 7 p. 100 non filtrées sur filtre Seitz stérilisant. Nous avons déjà signalé l'importance de ce facteur à propos des solutions à 3,5 p. 100. De même, nous avons rapporté au début de ce chapitre les expériences de Sappey, dont les chiens présentèrent pendant quelques jours des troubles de la diurèse. Les solutions utilisées par cet auteur étaient sans doute hypertoniques au plasma sanguin de chien; mais nous ne pensons pas que ceci soit la cause des résultats moins bons qu'il a obtenus. Nous avons en effet personnellement traité un chien avec une solution d'hémoglobine à 6,5 p. 100, rendue fortement hypertonique par du glucose, et l'animal n'a présenté aucun trouble de ses fonctions rénales; mais les solutions de Sappey n'avaient pas été non plus filtrées, et nous croyons plutôt que c'est en cela qu'a résidé leur imperfection.

On conçoit très bien en effet que s'il reste dans les solutions des débris d'hématies ou de capsules globulaires, qu'une simple centrifugation suivie d'une décantation minutieuse ne saurait suffire à éliminer, comme nous nous en sommes rendu compte, ces corps étrangers puissent servir d'amorce à l'altération des tubes urinaires par l'hémoglobine.

D'autre part, dans le cas du chien 101, la solution avait été incomplètement déséthérisée; et il est probable que ce toxique a dû joindre son influence à celle de l'hémoglobine pour léser le rein.

On a bien l'impression en effet, du seul point de vue fonctionnel, que, même utilisées dans les meilleures condi-

tions de préparation, les solutions d'hémoglobine à 6,5 p. 100 sont fonctionnellement à la limite de la toxicité et qu'il suffit de peu de chose pour leur faire franchir cette limite. C'est ainsi du moins qu'il nous paraît juste d'interpréter les menus signes de souffrance du rein que nous avons observé chez la majorité de nos chiens, ainsi que les troubles plus évidents que nous avons constatés sous l'influence de petites causes pathogènes surajoutées. Nous verrons que l'examen histologique nous a confirmé dans cette opinion.

3° Etude des fonctions hépatiques

Les seuls symptômes qui pourraient être interprétés comme relevant d'une insuffisance hépatique furent l'existence chez la plupart de nos animaux, et notamment chez les chiens 74 (observation XXXI), 102 (observation XXX), 103 (observation XXXIII), 104 (observation XXXIV), 78 (observation XXXV), 84 (observation XXXVI), de pigments biliaires et d'urobiline les deuxième et parfois les troisième jours suivant l'injection d'hémoglobine. Mais, comme nous l'avons déjà dit, on peut se demander si en réalité ce phénomène transitoire ne traduit pas pour une part une stimulation de la biligénèse hépatique sous l'influence d'un apport supplémentaire de matière première, et pour l'autre au moins un processus de biligénèse rénale.

En tout état, nous n'avons pu relever par ailleurs chez aucun de nos chiens, pas même chez ceux qui présentèrent une petite néphrite passagère, le moindre trouble fonctionnel du foie. Les taux de la fibrinémie, de la lipémie, de la cholestérolémie ne furent pas modifiés et les épreuves du R. B. et de la galactosurie provoquée donnèrent des résultats constamment normaux.

4° Etude des autres fonctions organiques

Nous n'avons cliniquement observé aucun trouble chez

nos animaux soumis aux injections d'hémoglobine à 6,5 ou 7 p. 100. Leurs fonctions digestives se montrèrent toujours normales en dehors d'une légère inappétence observée parfois le premier jour. Les chiens ne parurent ni essoufflés, ni somnolents, ni apathiques.

III. — EXAMENS HISTOLOGIQUES DES PRINCIPAUX ORGANES DES CHIENS TRAITÉS, APRÈS SAIGNÉE, PAR L'ADMINISTRATION INTRAVEINEUSE A DOSE THÉRAPEUTIQUE DE SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE A 7 OU 6,5 P. 100.

Nos examens ont porté sur les organes de sept animaux sacrifiés au bout des délais respectifs suivants : un jour, huit jours, quinze jours, trente jours, trente-quatre jours, soixante-quinze jours, quatre-vingt-dix jours. Aucun de ces animaux n'a présenté de trouble important du fonctionnement de leurs reins. Le chien sacrifié au bout de trente jours (chien 56, observation XXIII) a cependant présenté une poussée d'azotémie éphémère le lendemain de l'injection d'hémoglobine.

Nous rapporterons nos résultats par organe et, pour chaque organe, par chien.

1° *Examens histologiques des reins*

Chien 59. — Sacrifié au bout d'un jour (observation XXIV).

Le rein de cet animal, qui était macroscopiquement de teinte foncée, présente à l'examen histologique deux sortes de phénomènes :

1° Elimination de l'hémoglobine qui se traduit par l'existence de cylindres de diverses catégories : homogènes, granuleux ou en tablettes se colorant par le cyanol. Ces formations se rencontrent dans toutes les régions du rein, mais elles affectent une localisation très fortement prédominante : dans une zone intermédiaire du rein, correspon-

dant aux bases opposées des pyramides de Ferrein et de Malpighi; et dans les parties de la pyramide de Malpighi voisines du sommet. Au total, c'est au niveau des segments à bâtonnets de la branche ascendante de l'anse de Henle et des tubes droits et de Bellini que se rencontrent ces cylindres (microphoto VIII).

2° Lésions de néphrite épithéliale, incontestable, mais d'intensité modérée, portant sur les divers segments des tubes urinaires et se caractérisant par les aspects cellulaires habituels avec prédominance au niveau des tubes à bâtonnet (microphotos IV et XV). Il n'existe pas d'images bien nettes en rapport avec les modifications locales de l'hémoglobine en voie d'élimination. On peut cependant signaler l'existence de quelques cristaux, intra-cellulaires et intra-nucléaires, colorables en bleu vif par le cyanol dans la région du *cortex corticis*, au niveau des cellules des segments intermédiaires de Schweiger-Seidel.

Chien 75. — Sacrifié au bout de six jours (observation XXXII).

L'examen des reins, qui étaient d'apparence microscopique normale, montre :

1° Que l'élimination rénale de l'hémoglobine a été rapide, car au sixième jour il ne persiste plus que de rares cylindres, siégeant dans la zone intermédiaire et dans la zone papillaire. Ces cylindres ne présentent plus que d'une façon exceptionnelle la réaction au cyanol. Ils se teignent très faiblement par cette couleur ainsi que par l'éosine, le picroponceau, l'hématoxyline au fer.

2° L'atteinte rénale a été faible, semble-t-il, en ce sens que les lésions actuellement existantes sont relativement minimales. Beaucoup de tubes ont récupéré leur structure normale, avec notamment une brosse et un chondriome normaux dans les segments contournés. Les images de fragmentation mitochondriale, d'exode de boules sarcodiques, de décapitations cellulaires sont rares. C'est surtout au

niveau des tubes où persistent encore les cylindres que de telles lésions s'aperçoivent.

3° Le passage de l'hémoglobine se traduit cependant par la présence de grains pigmentaires colorés spontanément en jaune ou en vert, les uns contenus dans la lumière des tubes où ils forment des masses granuleuses provenant manifestement d'une évolution des cylindres hémoglobiniques, les autres plus fins incorporés dans les cellules elles-mêmes et même dans certains noyaux.

L'application des techniques de détection du fer montre que ces grains sont de deux ordres : les uns donnent la réaction du fer, les autres ne la donnent pas.

La question des rapports entre ces diverses masses pigmentaires et leurs relations avec l'hémoglobine sera étudiée ultérieurement.

En tous cas, en certains points, la surcharge hémoglobinique a provoqué la formation de nodules de résorption de tubes ou de fragments de tubes, dans lesquels étaient restés des débris de cylindres d'hémoglobine qui, après avoir subi la transformation en pigment vert ou en hémosidérine, ont été englobés par les cellules.

Chien 57. — Sacrifié au bout de quinze jours (observation XXV).

L'étude des reins, qui étaient d'apparence microscopique normale, montre que l'élimination de l'hémoglobine a été nettement moins complète chez cet animal que chez le sujet précédent, nonobstant la durée plus longue de l'expérience.

Ce caractère se manifeste par la présence d'assez nombreux cylindres hémoglobiniques, présentant leurs aspects habituels et localisés dans les zones intermédiaire et papillaire du rein où on est habitué à les rencontrer, à l'intérieur des branches ascendantes des anses de Henle et des tubes droits principalement.

Dans ce rein on a des images très remarquables qui per-

mettent de suivre l'évolution des derniers cylindres hémoglobiniques attardés dans les tubes. On voit ces cylindres se transformer sur places en masses granuleuses de pigment jaune verdâtre, parfois très importantes. Ces granulations sont captées, en partie du moins, par les cellules des tubes, aussi bien au niveau des segments contournés qu'au niveau des anses ascendants de Henle et des canaux collecteurs. Dans certaines cellules, ces amas pigmentaires sont si abondants que l'on peut se demander jusqu'à quel point ils n'auraient pas compromis à brève échéance la vie des éléments. La présence de cellules desquamées chargées de pigments libres dans la lumière des tubes permet de penser que bon nombre d'entre ces cellules, chargées de pigments, étaient destinées à disparaître, ce qui aurait constitué une séquelle éloignée du processus de néphrite. L'étude histologique de ce pigment montre qu'il s'agit principalement de pigment biliaire; quelques granulations intracellulaires surtout donnant seules la réaction du fer après démasquage.

En certains points du labyrinthe, ces phénomènes de rétention et de résorption d'hémoglobine ont déterminé une réaction irritative importante, ayant abouti à la formation d'un nodule de cellules conjonctives du type polyblaste, au milieu duquel se trouvent, partiellement détruits ou collabés, des tubes dont les cellules renferment encore ou ont laissé échapper des grains pigmentaires.

Par ailleurs, on note un état assez satisfaisant des tubes urinaires. Cependant, le processus de néphrite épithéliale n'est pas entièrement éteint, et si les grosses desquamations tubulaires et les décapitations cellulaires manquent en général, on trouve encore des altérations du chondriome et de la brosse ainsi que des émissions de boules sarcodiques.

En résumé, la néphrite épithéliale des premiers stades s'est apaisée lentement tout en laissant persister certains signes histologiques de son activité.

De plus, on assiste à des phénomènes de résorption des cylindres hémoglobiniques, avec évolution de ce pigment

soit en pigment biliaire surtout, et plus rarement en pigment ocre ferrugineux. Ces phénomènes de résorption s'accompagnent de processus d'athrocytose pigmentaire aboutissant à la mort et à la desquamation cellulaire tardive, avec dans certains cas, effacement, rupture des tubes et formation de nodules de néphrite réactionnelle secondaire.

Chien 56 et 58. — Sacrifiés respectivement au bout de trente et quarante jours (observations XXIII et XXVI). L'aspect des reins est sensiblement le même.

Les phénomènes de l'élimination rénale de l'hémoglobine sont terminés. On ne trouve plus trace de cylindres donnant la réaction au cyanol et même les processus ultimes de pigmentogénèse hémoglobinique sont éteints. On aperçoit cependant encore quelques traces dans le labyrinthe sous forme de plages où, par suite de la persistance de cylindres chargés d'hémoglobine, se sont produits les phénomènes réactionnels signalés plus haut. D'ailleurs, au niveau de ces plages, en voie d'organisation cicatricielle, il ne persiste que des vestiges pigmentaires rares. La plupart de ces grains donnent maintenant, la réaction du fer, et le pigment jaune vert non ferrugineux est devenu assez exceptionnel.

En plus de cet état, on note encore à ce stade la persistance d'un très léger degré de néphrite épithéliale qui se caractérise au niveau des segments sécréteurs du tube urinaire par des altérations du chondriome et de la brosse, par des destructions cellulaires partielles et des émissions de corps sarcodiques (microphoto XIV) ; et, au niveau des tubes droits collecteurs, par l'existence de cylindres, surtout cellulaires.

Chien 64 et 63. — Respectivement sacrifiés au bout de soixante-dix et quatre-vingt-dix jours (observations XXVIII et XXVII).

Sans être entièrement absentes, les manifestations de

néphrite épithéliale sont très minimes, surtout dans la région du labyrinthe. On trouve cependant encore dans la région des tubes collecteurs et des tubes droits quelques rares cylindres cellulaires non pigmentés et un très petit nombre de tubes qui ont subi à ce niveau une desquamation partielle de leur revêtement épithélial.

Quant aux phénomènes d'élimination de l'hémoglobine, ils ont entièrement disparu.

Il résulte de ces divers examens que, bien que cliniquement ces animaux n'aient présenté que de minimes troubles du fonctionnement des reins, le passage de l'hémoglobine à travers ceux-ci n'en a pas moins produit, sur le moment, des altérations de néphrite épithéliale, caractérisées par les signes habituels de ces processus : gonflement des cellules, éclatement, essaimage de boules sarcodiques, desquamation.

Il suffit cependant de comparer les images obtenues avec les reins du chien 59, traité par l'hémoglobine à 7 p. 100. et sacrifié au bout d'un jour (microphoto IV), avec celles des reins des animaux traités par l'hémoglobine à 14 p. 100 (microphotos I et IX) ou par l'hémoglobine à 3,5 p. 100 (microphoto III), et sacrifiés les uns et les autres précocement après l'injection, pour se rendre compte de la différence d'intensité des processus. Tandis que chez le chien 62 (observation VIII) qui reçut la concentration la plus forte, les tubes urinaires sont complètement obstrués et présentent un décapage intense de leur revêtement épithélial, et que chez le chien 31 (observation XIV) qui fut soumis aux solutions à 3,5, on observe aussi un encombrement, qui, quoique moins complet, reste encore cependant très important, avec de très graves lésions des épithélium tubulaires, la néphrite épithéliale est dans le cas du chien 59, beaucoup plus modérée et la perméabilité de l'immense majorité des tubes est restée telle que l'on comprend fort bien que la diurèse ait été peu troublée.

Au reste, la néphrite épithéliale aiguë produite par le

passage de l'hémoglobine à la concentration de 6,5 ou 7 p. 100 s'améliore très vite et guérit, en ne laissant que des traces minimales. Dans ce groupe d'expériences, en particulier, nous n'avons pas vu se constituer de néphrite chronique comme nous avons eu l'occasion d'en observer avec les deux autres groupes. Des rétentions d'hémoglobine donnant lieu à des images de résorption curieuses peuvent s'observer de ci de là dans quelques tubes, qui sont susceptibles de dégénérer. Mais de telles séquelles ne sont pas assez importantes pour s'extérioriser par des troubles fonctionnels.

Les examens comparatifs des reins des divers chiens traités par l'hémoglobine à 6, 5 ou 7 p. 100 bien que faits à des stades divers, paraissent indiquer d'ailleurs que certains détails de technique de préparation des solutions importent dans une certaine mesure, au point de vue de la tolérance des reins. Il est très remarquable que les reins du chien 75 (observation XXXII) sacrifié au bout de huit jours, montrent déjà un aspect à peu près normal, alors que les reins des chiens 57 (observation XXV), 56 (observation XXIII) et 58 (observation XXVI), sacrifiés respectivement au bout de quinze jours, trente jours et trente-cinq jours, présentent encore quelques cylindres et des altérations épithéliales. Certes, les susceptibilités individuelles sont grandes d'un animal à l'autre. Cependant la solution administrée au chien 75 fut minutieusement ajustée au degré de tonicité et à la constitution minérale du plasma sanguin, soigneusement déséthérisée, et filtrée sur filtre Seitz filtrant, puis sur filtre stérilisant. Tandis que dans les cas des autres animaux, comme dans celui du chien 59, sacrifié au bout d'un jour d'ailleurs, les solutions étaient hypotoniques, n'avaient pas été amenées à la composition minérale du plasma et furent peut-être filtrées avec moins de soins.

Les troubles fonctionnels observés dans ce groupe de chiens ont été trop minimes pour que des différences aient

pu être observées cliniquement en fonction de ces détails. Les examens histologiques, plus sensibles, semblent montrer leur importance.

2° Examens histologiques des foies

Chien 59. — Sacrifié au bout de vingt-quatre heures (observation XXIV).

Il existe une réaction notable non systématisée et parcel-laire des cellules de Kupffer. Les cellules hépatiques participent à ce processus d'une façon tout à fait inaccoutumée. On en trouve beaucoup en état de clarification avec margination du chondriome, demeuré généralement granuleux, et quelques mitochondriolyses et images d'hyposidérophilie. Néanmoins les figures de dégénérescence authentique sont rares.

Quelques cellules hépatiques renferment du pigment jaune, ne donnant pas la réaction du fer; il s'agit sans doute de pigment biliaire.

On n'observe pas d'images d'arrêt des dérivés hémoglobi-niques au niveau des cellules de Kupffer.

Chien 75. — Sacrifié au bout de six jours (observation XXXII).

Le foie ne présente pas de lésions dégénératives. A son niveau, on note, néanmoins, des manifestations fort importantes qui montrent la participation de l'organe aux processus organiques consécutifs à l'administration de l'hémoglobine.

Comme chez beaucoup de chiens appartenant au même groupe ou à des groupes différents, il existe une réaction Kupfférienne modérée, mais cependant incontestable. Les cellules hépatiques, de leur côté, sont remarquables par l'existence d'un chondriome presque exclusivement granuleux et par la présence de plastes sidérophiles pleins sphériques ou un peu irréguliers. Si l'on adopte les conceptions

de Noël concernant l'interprétation histo-physiologique des variations morphologiques du chondriome, il apparaît que nous sommes en présence d'un foie en état d'hyperactivité fonctionnelle. Quant à l'existence des plastes, elle est probablement en rapport avec le processus d'évolution hépatique de l'hémoglobine injectée.

Ce foie présente d'ailleurs des dispositions fort curieuses sur l'évolution de l'hémoglobine retenue dans l'organe. Nous reviendrons ultérieurement sur ce sujet.

Dans les cellules de Kupffer, il existe fréquemment des enclaves pigmentaires, les unes formées par du pigment vert, les autres par de l'hémosidérine coexistant souvent dans la même cellule.

Chien 57. — Sacrifié au bout de quinze jours (observation XXV).

Le foie est normal; il ne présente aucune sorte de surcharge pigmentaire; il n'y a pas de traces de réaction kupfférienne et les cellules hépatiques présentent des constituants morphologiques et notamment un chondriome qualitativement et quantitativement normal.

Chien 58 et 56. — Sacrifiés au bout d'un mois environ (observations XXVI et XXIII).

Le foie du chien 58 présente une assez forte réaction Kupfférienne. Les cellules hépatiques elles-mêmes, sans manifester de signes de dégénérescence, offrent un état de clarification presque généralisé à tout l'organe. En outre, dans certaines d'entre elles, on trouve des amas de pigment jaune vert non ferrugineux, réparti sous forme de une, deux ou trois grosses boules très régulièrement sphériques; quelques canalicules sont remplis du même pigment qui est très vraisemblablement du pigment biliaire.

Le foie du chien 56 présente les mêmes dispositions avec, peut-être, une présence moins fréquente de grains pigmentaires intracellulaires.

Chiens 64 et 63 (observations XXVIII et XXVII). — Sacrifiés respectivement au bout de deux mois et demi et trois mois.

Les foies de ces deux animaux sont parfaitement normaux, sauf la présence dans quelques rares cellules de grosses boules de pigment vert.

Il résulte de ces divers examens que le foie présente dans les jours suivant l'injection d'hémoglobine un processus réactionnel lié à l'élimination ou à la transformation de ce pigment. Mais, ce processus paraît traduire plutôt, un état d'hyperactivité fonctionnelle qu'un état lésionnel et nous ne manquerons pas de rapprocher à cet égard, des constatations histologiques, les constatations que nous avons faites cliniquement, relativement à la présence passagère de pigments biliaires et d'urobiline dans les urines, dans les jours qui suivirent l'administration d'hémoglobine. Nous reviendrons sur cette question ultérieurement. Concluons seulement pour l'instant que l'hémoglobine à la concentration de 7 p. 100 ne lèse pas le foie.

3° Examen histologique des poumons

Chien 59. — Sacrifié au bout d'un jour (observation XXIV).

Le poumon est le siège d'une réaction très modérée et parcellaire caractérisée par des plages d'épaississement des cloisons alvéolaires, infiltrées de polyblastes avec distension modérée des capillaires et légère stase sanguine.

Le pigment, abondant, est exclusivement représenté par du pigment noir. En tous cas, on ne trouve pas d'enclaves d'hémosidérine donnant la réaction du fer ni d'enclaves de pigment ocre en voie de mélanisation.

Chien 75. — Sacrifié au bout de six jours. (Observation XXXII).

Il existe une forte réaction pulmonaire avec énorme

épaississement des parois alvéolaires infiltrées de cellules conjonctives mobiles et de quelques polynucléaires (microphoto XVI).

Ce poumon renferme, comme tous les poumons, du pigment. Mais ici on trouve du pigment noir et en même temps des cellules dont le cytoplasme présente une coloration jaune diffuse, tatouées de grains noirs. Ces cellules donnent la réaction du fer, soit au niveau de certains des grains pigmentaires noirs ou bruns qu'elles renferment, tandis que d'autres grains dans la même cellule conservent leur coloration noire initiale et ne donnent pas la réaction du fer.

En somme, il s'agit, à quelques différences quantitatives près, d'ailleurs peu appréciables, de phénomènes analogues à ceux observés au même stade chez les chiens injectés avec de l'hémoglobine à 3,5 p. 100 et correspondant à une évolution mélanique ou pseudo-mélanique du pigment hémoglobiné avec stade de pigment ocre (hémosidérine interposé).

Chien 57. — Sacrifié au bout de quinze jours. (Observation XXV).

Le poumon présente des signes de réaction notable mais modérée. L'épaississement des cloisons alvéolaires par infiltration de cellules lympho-conjonctives est en voie de régression et il n'y a aucune manifestation du côté de la muqueuse bronchique. Il n'y a pas de desquamation alvéolaire et les cellules à poussière libre dans les alvéoles sont rares (microphoto XVII).

Chiens 58 et 56. — Sacrifiés au bout d'un mois environ. (Observations XXVI et XXIII).

Les poumons présentent quelques différences. Dans les deux cas, ces organes, il est vrai, renferment très peu de pigment; les gros amas pigmentaires sous-pleuraux, péri-bronchiques surtout, ou interstitiels, ont en partie disparu et on rencontre des cellules à poussière encore bloquées

dans les parois alvéolaires isolées ou en petits amas.

Cependant chez le chien 58, les parois alvéolaires restent épaisses, congestionnées, bourrées de cellules réactionnelles.

Chez le chien 56 (microphoto XVIII), la plupart des parois alvéolaires sont revenues à leur état normal; l'épaississement ne persiste qu'en de rares endroits; par contre, chez ce chien, on trouve quelques foyers peu étendus d'alvéolite irritative, caractérisés surtout par la desquamation de cellules alvéolaires contenant des grains de pigment sans cellules inflammatoires surajoutées.

En somme, il semble qu'on assiste chez ces deux chiens à une liquidation de la surcharge pigmentaire du début, liquidation déjà assez avancée qui s'est effectuée probablement par les moyens ordinaires, blocage dans les ganglions hilaires et expulsion à l'extérieur par l'intermédiaire des cellules à poussières desquamées; peut-être d'ailleurs les grosses cellules remplies de pigment et groupées en gros amas signalées antérieurement dans divers endroits du poumon subissent-elles sur place une liquidation par les nombreux macrophages amenés par la réaction.

Chien 64. — Sacrifié au bout de deux mois et demi. (Observation XXVIII).

On trouve au niveau du poumon des plages étendues et irrégulièrement distribuées, différentes les unes des autres (microphoto XIX).

Les unes ont une structure à peu près normale en ce sens que la réaction du parenchyme caractérisée par l'épaississement des parois alvéolaires et la congestion concomitante a à peu près complètement disparu, sauf au niveau de petits foyers rares et sporadiques.

Les autres sont encore en pleine réaction.

L'étude des pigments au niveau de ces deux sortes de zones est instructive. Elle montre que dans les parties qui

ont récupéré à peu près complètement leur structure, il n'existe plus d'amas pigmentaires; mais seulement des cellules conjonctives libres et dispersées, tatouées de grains pigmentaires plus ou moins abondants, mais n'atteignant plus la densité qu'on voit dans les blocs pigmentaires des stades initiaux. Dans certains des foyers sporadiques où la réaction a persisté, il existe encore de petits amas de cellules pigmentaires agrégées et immobilisées.

Par contre, dans les plages où la réaction des parois alvéolaires persiste, des amas pigmentaires plus ou moins étendus s'observent encore, en même temps d'ailleurs que des cellules pigmentaires libres dispersés un peu partout.

Certains de ces amas déterminent autour d'eux une réaction conjonctive qui tend à les enkyster et à les isoler.

Au point de vue de leur nature, ces pigments sont certainement complexes. Certaines granulations donnent la réaction du fer, mais les plus nombreuses ne la donnent pas.

Les phénomènes de desquamation alvéolaire sont très limités et se rencontrent exceptionnellement; il en est de même des cellules à poussière libres dans les alvéoles.

En somme il semble que dans certaines parties du poumon, la liquidation du pigment soit très avancée, tandis que dans d'autres elle persiste encore. Il y a manifestement un certain parallélisme entre l'état des parois alvéolaires et la surcharge pigmentaire de la région considérée.

Il semble aussi qu'on assiste à un processus de liquidation un peu particulier des gros amas pigmentaires qui n'ont pas encore été résorbés; certains d'entre eux, tout au moins, sont l'objet d'une tentative d'enkystement par le tissu des parois alvéolaires en réaction.

D'autre part, autour des gros amas, il existe toujours une vive réaction caractérisée par une abondance marquée de cellules lympho-conjonctives généralement tatouées d'un petit nombre de grains pigmentaires. Par contre, les cellules des amas pigmentaires autour desquels

se fait cette réaction, sont souvent moins chargées que dans les stades antérieurs. Certaines d'entre elles sont vacuolisées et semblent avoir laissé échapper en dehors d'elles une partie de leur pigment devenu libre.

Il est possible que ces images répondent à une tentative de liquidation sur place des amas volumineux et denses de cellules pigmentaires immobilisées dans le poumon. Le pigment ainsi libéré est capté par les cellules conjonctives voisines qui sont sans doute chargées d'assurer ensuite leur transport en dehors du poumon.

Chien 63. — Sacrifié au bout de trois mois. (Observation XXVII).

En dehors d'un foyer de congestion intense avec irruption de globules rouges dans les alvéoles et dans les bronches, et qui est vraisemblablement un accident sans rapport avec les processus qui nous intéressent, on constate l'affirmation des faits observés dans le poumon précédent. En effet, au moins dans le territoire examiné, les signes de réaction des parois alvéolaires ont disparu. Il n'y a pour ainsi dire plus de ces gros amas pigmentaires denses si caractéristiques des stades initiaux. On trouve encore cependant des cellules isolées ou assemblées par petits groupes, chargées de pigment; mais la plupart des éléments qui renferment des enclaves pigmentaires sont libres et dispersés. Il existe quelques cellules à poussière intra-alvéolaires, mais elles demeurent rares.

Quant à la nature de ces pigments, elle se révèle toujours la même : il s'agit de pigment noir surtout, avec quelques grains associés aux précédents et donnant encore la réaction du fer.

En résumé, alors que cliniquement, aucun signe n'attira notre attention sur l'appareil respiratoire de nos animaux, les examens histologiques de leurs poumons nous ont révélé la présence d'un processus réactionnel important,

lié à la rétention et, semble-t-il, à la résorption de l'hémoglobine, et qui est essentiellement caractérisé par un épaississement, souvent fort important, des parois alvéolaires. La durée de ce processus est fonction de la facilité avec laquelle la liquidation du pigment s'opère. Celle-ci était déjà très avancée chez le chien 56 au bout de trente jours. Elle se montre beaucoup plus en retard chez le chien 64 au bout de soixante-quinze jours. Les différences individuelles sont donc considérables à cet égard.

Il semble que, dans le cas des chiens traités avec de l'hémoglobine à 7 p. 100, le phénomène présente une intensité intermédiaire entre celle qu'il affecte pour les solutions à 14 p. 100 et qui est considérable, et celle qu'il a pour les solutions à 3,5 p. 100, et qui est plus faible.

4° Examens histologiques des rates.

Chien 59. — Sacrifié au bout d'un jour (Observation XXIV).

La pulpe rouge ne semble pas plus infiltrée de cellules qu'à l'état normal. Il existe d'assez nombreux ocytes donnant la réaction du fer.

Chien 75. — Sacrifié au bout de six jours (Observation XXXII).

La rate présente une très vive réaction de la pulpe rouge qui est infiltrée de très nombreuses cellules lympho-conjonctives diverses. Les faits qui nous intéressent plus particulièrement au niveau de cet organe sont les suivants :

Présence d'un très grand nombre d'ocytes typiques spontanément colorés en jaune et dont le contenu homogène ou granulé donne la réaction du fer après démasquage. Ces enclaves pigmentaires sont donc constituées par de l'hémoridérine. En outre, on trouve des grains isolés ou agglomérés d'hémoridérine libres dans la pulpe splénique.

Chien 57. — Sacrifié au bout de quinze jours (Observation XXV).

Au niveau de la rate, on n'observe pas de réaction de la pulpe rouge analogue à celle qu'on a signalée dans d'autres cas. Il existe des ocrocytes typiques chargés d'hémoridérine, mais ces cellules ne sont pas particulièrement abondantes, et il est possible qu'elles répondent simplement aux processus normaux de cryptophagie physiologique et qu'elles n'aient rien à voir avec les processus consécutifs à l'injection d'hémoglobine, processus d'ailleurs en voie d'extinction apparente.

Chiens 58 et 56. — Sacrifiés au bout d'un mois environ (Observations XXVI et XXIII).

Il n'y a pas de différences sensibles dans la structure de la rate de ces deux chiens. Comparativement à ce que l'on a observé dans les stades antérieurs, on peut dire que l'infiltration cellulaire de la pulpe est en décroissance. En second lieu, on ne trouve plus que de rares ocrocytes; les seules formations pigmentaires sont représentées par quelques amas très rares libres de pigment ocre peu importants et par quelques cellules également fort clairsemées renfermant un petit nombre de fins grains pigmentaires d'hémoridérine.

Chiens 64 et 63. — Sacrifiés respectivement au bout de deux mois et demi et trois mois (Observations XXVIII et XXVII).

La rate de ces deux animaux est normale. La pulpe rouge ne présente plus d'infiltration cellulaire anormale. On observe quelques ocrocytes, mais ils sont très rares et ne semblent pas avoir de signification particulière.

En résumé, les injections intraveineuses d'hémoglobine à 7 p. 100 déterminent au bout de quelques jours une vive réaction de la pulpe rouge en rapport avec la fixation de pigment à son niveau. L'infiltration cellulaire qui en résulte disparaît par la suite.

IV. — RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Il résulte des exposés que les solutions d'hémoglobine, de cheval ou de chien, administrées par voie veineuse, à dose thérapeutique, à des chiens ayant subi une forte saignée préalable, sont dans l'ensemble mieux supportées, et plus régulièrement, que les solutions à 3,5 p. 100, et surtout les solutions à 14 p. 100, injectées dans des conditions analogues.

Sur quatorze animaux que nous avons expérimentés avec des solutions à cette concentration moyenne, deux seulement ont présenté des symptômes cliniques de néphrite, d'ailleurs passagers et, au moins dans un cas, de peu d'importance. Les douze autres n'ont manifesté que des signes minimes de souffrance des reins : légère hésitation de la diurèse pendant les heures suivant l'injection d'hémoglobine, comme si le rein méditait l'élimination de cette dernière; très faible élévation de l'azotémie le lendemain de l'expérience seulement; présence dans les urines, pendant les jours suivants, d'hématies traduisant la congestion de l'organe et de cylindres, traduisant l'irritation des tubes urinaires. A part cela, tous les examens effectués trois ou quatre jours après l'injection dans le sang et les urines pour la détection des éléments anormaux ou le dosage des éléments normaux, ainsi que l'établissement de la constante d'Ambard, l'épreuve de l'élimination de la P. S. P. et celle de la diurèse n'ont permis de déceler aucun trouble.

L'examen histologique des reins de ces animaux, cependant, a montré que le passage de l'hémoglobine, même sous cette concentration, dans les tubes urinaires, les traumatise : les cellules épithéliales se gonflent, essaient des boules sarcodiques et peuvent éclater et desquamer par endroits. Des cylindres se constituent de ci, de là, dans la lumière de certains tubes. Mais ces divers processus ne

sont pas assez intenses pour gêner d'une manière cliniquement très appréciable le fonctionnement de l'organe, comme il arrive si souvent avec les solutions d'hémoglobine à 14 p. 100, et parfois aussi avec celles qui titrent 3,5 p. 100.

Bien plus, la néphrite épithéliale que détermine le passage d'hémoglobine en solution à 6,5 ou 7 p. 100 dans les tubes urinifères, s'amende avec rapidité et guérit sans séquelles suffisantes pour donner lieu à des signes d'insuffisance rénale; et plusieurs de nos animaux qui survécurent aux expériences conduites avec les solutions à 7 p. 100, furent utilisés à nouveau quelque temps après pour l'étude d'autres problèmes posés par la question de l'hémoglobinothérapie. Et comme toutes les épreuves et tous les examens que nous avons alors réalisés chez eux nous avaient donné des résultats normaux, nous les avons soumis à une nouvelle injection d'hémoglobine, de titre variable, selon les cas.

Ainsi les solutions d'hémoglobine à 6,5 ou 7 p. 100 réalisent donc, par rapport aux solutions à 14 ou à 3,5 p. 100 un minimum de troubles rénaux. Cette conclusion n'est valable cependant que si les solutions ont été convenablement préparées. Il est très remarquable que les deux seuls chiens de ce groupe qui présentèrent cliniquement des signes évidents de néphrite, ont été traités par des solutions non filtrées, mais simplement centrifugées et décantées, à l'inverse de ce qui s'est produit pour onze des douze autres chiens.

Celui de ces animaux qui présenta les troubles les plus marqués, reçut en outre une solution qui, non seulement n'avait pas été filtrée, mais qui, de plus, contenait encore de l'éther, par suite d'une insuffisante évaporation. Et il est vraisemblable que cette substance a ajouté en l'espèce, son pouvoir toxique à celui de l'hémoglobine.

Les observations que nous avons faites avec nos solutions à 7 ou 6,5 p. 100 d'hémoglobine nous ont en effet

montré qu'elles étaient fonctionnellement à la limite de la toxicité. Mais il faut, semble-t-il, peu de chose : la persistance de débris globulaires dans la solution par suite d'un déficit de filtration, l'adjonction d'une substance irritante, un processus infectieux surajouté, un trouble surajouté de la diurèse comme nous allons le voir, pour faire franchir à l'hémoglobine cette limite.

Nous n'avons pas réussi à savoir cliniquement si l'ajustement des solutions à 7 ou à 6,5 p. 100 au degré de tonicité et à la composition minérale du plasma sanguin de chien influait sur la tolérance des reins à leur égard. Les examens histologiques, qui, en l'espèce, se sont montrés des tests plus sensibles que les méthodes d'exploration fonctionnelle, paraissent avoir indiqué que ces perfectionnements dans la préparation des solutions n'étaient pas sans intérêt.

Le foie des animaux traités par des solutions d'hémoglobine à 6,5 p. 100 manifeste, surtout pendant quelques jours, des signes d'hyperactivité. Il en est de même de la rate. Mais, ni l'un ni l'autre de ces organes ne présentent de lésion proprement dite.

Il n'en est pas de même des poumons, dont les cloisons alvéolaires infiltrées de pigment se montrent régulièrement épaissies et dont le retour à l'état normal, qui paraît fonction de la liquidation de ce pigment *in situ*, peut demander des semaines et même des mois. Il est juste d'ailleurs de remarquer que ces modifications de la structure des parois alvéolaires ne s'extériorisent par aucun trouble fonctionnel.

CHAPITRE VI

Etude toxicologique des solutions d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100, administrées en goutte à goutte par voie veineuse, à des animaux chloralosés et en état d'anémie par saignée.

Les études précédentes nous ont montré que l'organe le plus sensible à l'action toxique de l'hémoglobine est le rein qui élimine en partie les pigments injectés dans les veines. Aussi nous nous sommes demandé, si cette substance filtrerait dans la même proportion à travers les tubes urinaires, et y provoquerait les mêmes troubles si, pour une dose toujours égale, on l'administrerait avec une extrême lenteur, pendant des heures, dans la circulation, au lieu de l'injecter en vingt à trente minutes, comme nous l'avions toujours fait dans nos recherches.

C'est dans ce but que nous avons réalisé chez deux chiens une sorte de goutte à goutte continue intraveineux de solution d'hémoglobine. Les conditions générales de notre expérimentation furent les suivantes : Comme nous ne pouvions maintenir un animal en état de veille, attaché sur une table, à longueur de journée, pour y subir une injection continue dans la veine, nous dûmes préalablement à toute expérience avoir recours à l'anesthésie. On administra à cet effet, par voie veineuse, une dose de chloralose égale à 0 gr. 10 par kilogramme de poids du corps dissoute dans 150 cc. de sérum physiologique. Puis, après dénudation des veines fémorales, on pratiqua une saignée. On enleva alors, selon la technique générale utilisée dans toutes nos recherches, un volume de sang égal à 30 cc. par

kilogramme de poids du corps augmenté de 75 cc.; cette quantité représentant la moitié du volume de la solution de chloralose préalablement administrée.

Après la saignée, on adapta alors dans la veine une aiguille reliée à un dispositif dit goutte à goutte déversant dans la circulation une solution d'hémoglobine, de telle sorte qu'en principe, il fallait neuf heures environ pour faire passer une quantité de liquide égale à la moitié de celle du sang prélevé. La solution était à 37°, grâce à son passage à travers le serpentin d'un thermostat à température constante convenable. L'anesthésie produite par la dose initiale de chloralose ne durant pas assez longtemps, nous dûmes, à deux ou trois reprises, injecter des quantités supplémentaires de chloralose à petite dose.

Les chiens furent sondés avant, et toutes les heures après le début de la perfusion.

Dans les deux cas, nous avons utilisé une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, et de même composition minérale que ce milieu.

A titre de comparaison, nous avons fait aussi deux témoins avec du sérum physiologique à 9 p. 1.000, administré dans des conditions rigoureusement semblables.

1° Administration lente et continue de solution d'hémoglobine de cheval à 6 p. 100 dans la circulation de deux chiens chloralosés en état d'anémie par saignée.

OBSERVATION XXXVII

Chien 88. Poids, 22 kilogrammes. — La recherche des éléments anormaux ayant été effectuée dans les urines, ainsi que le dosage de l'urée sanguine, on opéra ce chien le 9 décembre 1938, après injection de 150 cc. de sérum physiologique contenant en solution 1 gr. 65 de chloralose. On enleva à ce chien, dix minutes après, 735 cc. de sang en vingt-

cinq minutes. On adapta alors le goutte à goutte et on régla le débit de telle sorte qu'il passât 40 cc. à l'heure.

Des sondages vésicaux furent effectués toutes les heures. De nouvelles injections d'anesthésique furent effectuées à nouveau au bout de la troisième, sixième et septième heure après le début de la perfusion, en quantité correspondant au un huitième de la dose initiale, dissoute dans 25 cc. de sérum physiologique chaque fois.

La perfusion dura en tout neuf heures. Au bout de ce temps il était passé exactement 390 cc. de solution hémoglobine.

Tout le long de l'expérience la respiration du chien s'est effectuée sur un rythme lent et d'une façon un peu superficielle mais ce rythme fut toujours très régulier.

Après la fin de l'expérience, l'animal fut mis dans sa cage. Il but durant la nuit un demi-litre d'eau et urina 800 cc. Le lendemain l'animal était en excellent état. Il urina au cours de la journée 1.010 cc. d'urines encore colorées. Il mangea entièrement sa ration.

Le surlendemain il urina 1.220 cc., en deux émissions, légèrement colorées en brunâtre.

Les jours suivants, l'animal était toujours en excellent état, et de très bon appétit. Il urina respectivement les quatrième, cinquième et sixième jour : 1.950, 1.600 et 1.750 cc.

Les résultats des analyses d'urine et des dosages d'urée sanguine sont mentionnés ci-contre.

Examens des urines

	Quant. sol. HbO injectée	Vol.	HbO	
Première heure	40 cc.	6 cc.	traces	
Deuxième heure	80 cc.	8 cc.	2,4 %	
Quatrième heure	120 cc.	13 cc.	4,4 %	
Cinquième heure	160 cc.	3 cc.	4,8 %	
Sixième heure	200 cc.	5 cc.	4,6 %	
Septième heure	240 cc.	80 cc.	1,4 %	
	P.g bil.	Alb.	Hématies	Cylindres
Avant	0	traces	0	0
Première heure	0	»	0	0
Deuxième heure	0	»	+	0

	Pig. bil.	Alb.	Hématies	Cylindres
Troisième heure	0	»	++++	++++
Quatrième heure	0	»	++++	++++
Cinquième heure	0	»	++	++
Sixième heure	0	»	++	+
Septième heure	0	»		

	Vol.	Hbo	Pig. bil.
Nuit	800 cc.	0,4 %	0
Second jour	210 cc.	0,8 %	0
—	800 cc.	0,3 %	0
Troisième jour	1000 cc.	0	+
Quatrième jour	1220 cc.	0	0
Cinquième jour	1950 cc.	0	++
Sixième jour	1600 cc.	0	0
Septième jour	1750 cc.	0	0

	Alb.	Hématies	Cylindres
Nuit		+	+
Second jour	»	»	»
—	»	+++	++++
Troisième jour	0,18	+	+
Quatrième jour	0,12	0	0
Cinquième jour	0,03	0	0
Sixième jour	0,04	0	0
Septième jour	0,03	+	0

Dosages d'urée dans le sang

	p. ‰		p. ‰
Avant l'expérience	0,18	Deuxième jour	0,61
Après l'injection init. de		Troisième jour	0,66
chloralose	0,20	Quatrième jour	0,50
Aussitôt après saignée ...	0,28	Septième jour	0,35
Deux heures après	0,38	Deuxième semaine	0,38
Quatre heures après	0,35	Troisième semaine	0,42
Six heures après	0,60	Quatrième semaine	0,54
Huit heures après	0,72		

On voit d'après ces résultats que l'hémoglobine a commencé à apparaître dans les urines dès la première heure, mais que les quantités d'urines émises pendant les six premières heures furent minimes, les reins éliminant l'hémoglobine sous une concentration progressivement croissante. Parallèlement apparurent dans les urines des cylindres et des hématies traduisant l'encombrement et la congestion

de l'organe. Enfin le taux de l'urée s'éleva progressivement jusqu'à 0,72.

Dans les heures suivant la fin de l'expérience, la diurèse se rétablit très vite, et dans les jours suivants, le taux de l'urée s'abaissa peu à peu. Les hématies et les cylindres disparurent bientôt. L'hémoglobinurie cessa le deuxième jour, mais une légère albuminurie lui fit suite durant quelques jours. L'animal, en parfaite santé, fut utilisé par la suite pour d'autres recherches.

OBSERVATION XXXVIII

Chien 91. Poids, 22 kilogrammes. — Les conditions opératoires et expérimentales furent strictement identiques à celles mentionnées pour le chien précédent. Après anesthésie de l'animal par le chloralose (1 gr. 65 dans 150 cc. de sérum physiologique), on saigna le chien de 660 cc., plus 75 cc., soit en tout 735 cc. en trente-cinq minutes. On adapta alors le goutte à goutte et on régla son débit à la vitesse de 40 cc. à l'heure. Des sondages vésicaux furent effectués toutes les heures.

Dès les premières gouttes injectées, on nota chez cet animal, une respiration plus régulière et plus profonde. Cinq heures après le début de la perfusion on effectua une nouvelle injection de chloralose (un quart de dose dans 60 cc. de sérum physiologique).

Au bout de la septième heure le chien mourut.

Les résultats des examens d'urines et des dosages d'urée sanguine effectués sur ce chien sont mentionnés aux tableaux ci-joints.

Examen des urines

	Quant. sol. inject.	Vol.	HbO
Première heure	40 cc.	15 cc.	0 %
Deuxième heure	80 cc.	12 cc.	0,35 %
Quatrième heure	120 cc.	12 cc.	0,9 %
Cinquième heure	160 cc.	1 cc.	1 %
Sixième heure	200 cc.	3 cc.	0,05 %
Septième heure	240 cc.	6 cc.	traces

	Pig. bil.	Hématies	Cylindres
Première heure	0	+	0
Deuxième heure	0	+	0
Quatrième heure	0	+	+
Cinquième heure	0	+	+
Sixième heure	0	+	0
Septième heure	0	+	+

Dosage de l'urée dans le sang

Avant l'expérience	0,23	Deux heures après	0,30
Après l'inject. init. de....		Quatre heures après	0,32
chloralose	0,25	Six heures après	0,45
Aussitôt après la saignée..	0,30	Sept heures après	0,68

Du point de vue de l'élimination de l'hémoglobine, de la diurèse et des fonctions du rein en général, nous observons chez ce chien des résultats à peu près du même ordre que chez le précédent. L'hémoglobine apparut dans les urines à la deuxième heure. Les quantités d'urines émises restent minimales pendant toute l'expérience. Elles présentent également hématies et cylindres. Enfin, le taux de l'urée s'éleva jusqu'à 0,68.

2° *Administration lente et continue de sérum physiologique dans la circulation de deux chiens chloralosés en état d'anémie aiguë par saignée.*

OBSERVATION XXXIX

Chien 89. Poids, 21 kgs 8. — Le chien fut endormi et saigné dans les mêmes conditions que précédemment. La saignée totale fut de 705 cc. compte tenu du volume de la solution de chloralose injectée.

Après adaptation du goutte à goutte, la respiration ne se modifia pas : elle resta lente et superficielle. Au bout d'une heure trente la respiration du chien s'amplifia et s'accéléra considérablement; elle fut très irrégulière; le pouls était incomptable.

Au bout de la deuxième heure, l'animal, qui avait reçu

90 cc. de sérum physiologique, était très mal. On accéléra alors la vitesse du goutte à goutte; on pratiqua la respiration artificielle, mais le chien mourut. On pratiqua un prélèvement de sang juste avant sa mort.

Les résultats des dosages d'urée effectués chez cet animal sont les suivants :

A l'état normal	0,22		Après saignée	0,35
Après chloralose	0,20		Deux heures après	0,30

Les sondages vésicaux pratiqués toutes les heures donnèrent pour la première heure un volume de 18 cc.; pour la deuxième heure un volume de 34 cc. Ces deux échantillons, en dehors de la présence d'un peu d'albumine, ne contenaient aucun élément anormal; on ne trouva pas en particulier de cylindres.

On voit que dans le court intervalle de temps que peut durer l'expérience, le volume des urines émises est encore minime, mais tout de même plus important que dans le cas des chiens soumis à l'hémoglobine. C'est tout ce que l'on peut déduire de cette observation au point de vue qui nous occupe en ce moment.

OBSERVATION XL

Chien 90. Poids, 23 kgs 800. — L'anesthésie et la saignée furent faites dans les mêmes conditions antérieurement décrites. La quantité totale de sang prélevé en vingt-huit minutes fut de 790 cc. compte tenu du volume de la solution de chloralose. On adapta alors le dispositif goutte à goutte.

La respiration de l'animal à ce moment était lente et superficielle mais régulière. Peu de temps après le début de la perfusion, le rythme se modifia, il resta lent; la respiration devint plus profonde, le temps de l'inspiration semblait normal, celui de l'expiration au contraire très prolongé. Au bout de la deuxième heure la respiration s'accéléra, mais présentait des temps d'arrêt. Le chien mourut au bout de la quatrième heure.

Le volume urinaire au cours de la première heure fut de 12 cc., durant la deuxième heure de 22 cc., durant la troisième et la quatrième heure de 38 cc. Cette urine ne conte-

nait aucun élément anormal. Les taux d'urée sanguine furent les suivants :

Avant l'expérience	0,18	Deux heures après	0,22
Après chloralose	0,15	Quatre heures après	0,25
Après saignée	0,20		

Chez ce chien comme chez le précédent, la diurèse resta peu importante durant les quatre heures qui suivirent la saignée; tout de même, les volumes d'urines émises furent plus abondants que dans les cas des injections d'hémoglobine. Les urines ne présentent aucun élément anormal. Le taux de l'urée sanguine, à la quatrième heure est de 0,25, alors que chez les deux chiens hémoglobinés il était à ce moment respectivement de 0,60 et de 0,47.

III. — CONCLUSIONS

Ainsi que nous l'avons dit plus haut, nous ne nous occuperons pas dans ce chapitre de l'activité physiologique de l'hémoglobine administrée dans les conditions ci-dessus exposées, mais seulement de sa toxicité. Or, tandis que précédemment, avec les mêmes solutions à 6,5 p. 100, isotoniques au plasma sanguin du chien, de même composition minérale que ce dernier milieu, soigneusement filtrées sur filtre Seitz stérilisant, nous n'avons pas observé, sauf en cas d'imperfection des préparations injectées, d'élévation anormale du taux de l'urée sanguine, nous voyons qu'ici ce taux s'est élevé progressivement au cours de la lente perfusion, et que dans le cas de survie, il est le lendemain à 0,61 et le surlendemain encore à 0,56.

De toute évidence, les conditions expérimentales particulières que nous avons adoptées, ont accru la toxicité des solutions d'hémoglobine à 6,5 p. 100 pour le rein.

On peut penser que l'anesthésie au chloralose, qui est une substance un peu toxique pour l'appareil rénal, est venue ajouter son effet à celui de l'hémoglobine; et nous

retrouvons ici un phénomène déjà observé et rapporté au chapitre précédent, à propos de solutions d'hémoglobines incomplètement déséthérisées, qui furent moins bien tolérées de ce fait.

Mais nos chiens témoins traités par le sérum physiologique furent aussi soumis à l'anesthésie par le chloralose. Chez celui qui survécut six heures, nous n'avons pas vu monter le taux de l'urée sanguine pendant ce temps, comme chez les deux animaux soumis aux solutions d'hémoglobine. Ce taux s'est un peu élevé par suite de la concentration des humeurs due à la saignée préalable et peut-être aussi du fait de l'anesthésie, mais sans atteindre des valeurs anormales. Par ailleurs, les quantités d'urines éliminées, pendant l'expérience, par ce chien, tout en étant fort restreintes, furent cependant un peu plus importantes que chez les chiens traités par l'hémoglobine et ces urines ne contenaient ni hématies ni cylindres.

Nous pensons qu'en fait, les choses doivent s'expliquer surtout d'une autre manière. Sous l'influence de l'importante déperdition de sang, non compensée rapidement par l'apport d'une masse de liquide réparatrice, la diurèse s'est naturellement ralentie, et le rein a dû éliminer de l'hémoglobine sous une concentration plus toxique. Stagnant anormalement dans les tubes urinaires, le pigment y a provoqué des troubles et altérations plus importantes que lorsqu'il ne fait qu'y passer; et, de fait, l'examen histologique des reins du chien 91, mort à la huitième heure, examen que nous ne rapportons pas en détail parce que le temps nous a manqué pour en faire une étude approfondie, nous a montré cependant que les lésions de néphrites épithéliales y sont plus accentuées que chez le chien 59 par exemple, traité rapidement par une solution de même titre, et sacrifié au bout de trente-six heures, alors que l'élimination de l'hémoglobine s'était faite rapidement. De là, les signes de néphrites cliniquement apparents chez nos chiens soumis à l'instillation, élévation progressive de

l'urée sanguine pendant quelques heures, réduction encore plus marquée que chez les témoins du volume des urines éliminées dans les heures suivant la saignée, cylindruries, petites hématuries microscopiques traduisant la congestion de l'organe.

Les troubles ne furent ni très graves ni très durables chez le chien 88, le seul qui survécut. Il est probable qu'avec des concentrations à 14 et à 3,5, nous aurions assisté à des accidents aussi marqués, sinon encore plus importants.

Tout ce que nous ont appris en effet les observations cliniques et les examens histologiques pratiqués au cours de nos recherches chez nos chiens soumis aux injections de solutions d'hémoglobine de titres divers montrent qu'il importe au plus haut point que l'hémoglobine affluant dans les tubes urinaires, en soit rapidement chassée; et toutes les conditions susceptibles d'activer la diurèse ne peuvent que diminuer la toxicité de ce pigment pour le rein. Telle est la conclusion principale qui se dégage notamment des expériences d'instillation lentes en goutte à goutte des liquides hémoglobinés après saignée abondante chez le chien.

CHAPITRE VII

Considérations générales sur la toxicité des solutions d'hémoglobine vis-à-vis des organes étudiés.

Au cours de nos multiples recherches sur l'hémoglobinothérapie des anémies aiguës par saignée chez le chien, nous nous sommes plus spécialement attachés à explorer le fonctionnement des reins et du foie, et à étudier l'état anatomique de ces deux organes ainsi que de la rate et des poumons.

Il est entendu que nous n'avons considéré les résultats obtenus comme valables qu'autant que nous avons eu la conviction que l'hémoglobine injectée était pure. Cette substance s'altère en effet très aisément; et donne naissance à des produits très toxiques, dont le principal effet est de déterminer des hémorragies gastro-intestinales profuses et le plus souvent mortelles. Nous nous sommes suffisamment étendu sur les précautions qu'il faut prendre au cours de la préparation des solutions d'hémoglobine, afin d'éviter de tels écueils, pour qu'il soit utile d'y revenir.

1° Action toxique de l'hémoglobine, administrée par voie veineuse, sur les reins.

Dans toutes les expériences, nous avons pu constater que le rein souffre plus ou moins du passage de l'hémoglobine dans son sein. Les perturbations produites ont varié dans des proportions considérables, puisque, dans certains cas, elles ont entraîné la mort par anurie et que, dans d'autres cas, les lésions n'ont pas été suffisantes pour s'ex-

térioriser cliniquement par des symptômes importants.

La diversité des conditions dans lesquelles nous nous sommes placés au cours de nos expériences nous a permis d'apprécier à leur valeur l'influence de divers facteurs à cet égard.

Disons tout d'abord que la toxicité de l'hémoglobine ne paraît pas fonction, au moins d'une manière cliniquement et histologiquement appréciable, de l'origine du pigment. Nous n'avons expérimenté, il est vrai, que l'hémoglobine de cheval et l'hémoglobine de chien, chez le chien, mais ces résultats furent sensiblement les mêmes dans les deux cas.

La tonicité minérale des solutions ne semble pas avoir non plus une importance primordiale, du moins dans les limites où nous avons fait varier cette valeur, et qui ont oscillé entre la moitié et le double environ de la tonicité du plasma sanguin de chien. Il est préférable cependant de rendre les solutions isotoniques à ce dernier milieu.

Nous nous sommes attachés à ajuster dans certains cas la composition minérale de nos préparations d'hémoglobine à celles du plasma de sang de chien. Mais ce perfectionnement, sans doute avantageux, ne paraît apporter à la tolérance de l'organisme pour le pigment qu'une amélioration d'ordre secondaire.

La filtration rigoureuse des solutions constitue certainement un élément de perfectionnement appréciable. Après avoir fait éclater les globules rouges par l'eau distillée, il importe d'éliminer soigneusement les capsules et débris cellulaires qui sont en suspension dans la solution d'hémoglobine ainsi obtenue. La centrifugation prolongée et la décantation la plus minutieuse sont infidèles à cet égard. La filtration sur filtre filtrant est elle-même imparfaite; et il est nécessaire de faire passer la solution sur un filtre stérilisant. Cette pratique ne suffit pas à enlever sa toxicité à une préparation d'hémoglobine, qui est toxique de par sa constitution. Elle contribue du moins à la débar-

rasser d'impuretés qui ne pourraient qu'accroître sa nocivité.

Il est évident de même, qu'il faut s'attacher, et dans le même but, à soustraire des liquides hémoglobinés toutes substances toxiques qui auraient pu être utilisées pour leur préparation. C'est ainsi que nous avons observé des accidents dus à un défaut de déséthérisation avec des solutions qui, dans des conditions de préparation plus parfaites, ont toujours été cliniquement bien supportées par l'organisme.

La réceptivité des animaux vis-à-vis de l'hémoglobine est, en ce qui concerne la tolérance rénale, très variable d'un sujet à l'autre. De mêmes solutions, utilisées dans des conditions identiques, ont pu chez certains chiens produire des troubles, alors qu'elles étaient parfaitement bien tolérées par d'autres. L'existence d'un état antérieur de néphrite ou plus simplement de débilité rénale, paraît avoir à cet égard une influence non négligeable.

Mais de tous les facteurs susceptibles de faire varier la toxicité de l'hémoglobine pour le rein, le plus important, et de beaucoup, est incontestablement le degré de concentration de la solution en pigment.

Il ressort en effet à l'évidence de nos observations, comme l'avaient déjà signalé d'ailleurs MM. Aubertin, Wangermez et Sappey, que des trois types de solutions que nous avons expérimentés, solutions à 14, à 6,5 ou 7, et 3,5 p. 100, la moins toxique est la solution de concentration moyenne à 6,5 ou 7 p. 100.

Avec les préparations à 14 p. 100 d'hémoglobine, nous avons constaté dans tous les cas des signes cliniques, le plus souvent graves, et même mortels (trois fois sur huit), de néphrite aiguë.

Avec les préparations à 3,5 p. 100, les résultats furent plus inconstants, les accidents moins importants; mais tout de même nous avons pu observer dans certains cas des néphrites sévères et persistantes.

Avec les préparations à 6,5 ou 7 p. 100, nous n'avons rien remarqué de semblable. Cliniquement, les animaux n'ont présenté aucun signe pouvant faire penser à une souffrance des reins; ou n'ont manifesté que de menus symptômes : légère diminution de la diurèse le premier jour, cylindriurie passagère, hématuries microscopiques. L'examen histologique a révélé, il est vrai, l'existence, même dans ces cas, de lésions de néphrite épithéliale. Mais ces lésions se montrèrent beaucoup moins importantes que dans les deux cas précédents; et leur évolution se fit vers la guérison et la réparation, en un temps très court, sans séquelles importantes.

Nous pensons que la raison de telles différences dans la toxicité pour les reins des solutions d'hémoglobine de titres divers doit être cherchée dans les variations des propriétés physicochimiques de ces solutions en fonction de leur concentration.

Nous reproduisons dans le tableau ci-dessous les caractères de nos trois solutions à cet égard et ceux du plasma sanguin de chien. Il est entendu que les trois solutions ont été rendues isotoniques à ce dernier milieu.

	Plasma de chien	HbO à 14 p. 100
Densité	1,020-1,026	1,046-1,049
Tension superficielle ..	69,7-71,4	63,5-65,5
Viscosité	0,0101-0,0117	0,015-0,018
P. O. C.	29,1-33,6	85-88
	HbO à 6,5 p. 100	HbO à 3,5 p. 100
Densité	1,026-1,027	1,015-1,010
Tension superficielle ..	68-70	70-72
Viscosité	0,0086-0,0079	0,0075-0,0079
P. O. C.	36-40	20-25

Il suffit de regarder attentivement ce tableau pour se rendre compte que c'est la solution d'hémoglobine à 6,5 qui présente la densité, la tension superficielle, la viscosité et la pression colloïdale osmotique les plus proches des valeurs correspondantes du plasma sanguin de chien.

Il est vraisemblable qu'il faut voir dans ces propriétés des solutions à 6,5, la cause de leur relative innocuité; et il est probable d'ailleurs que de toutes ces valeurs, c'est la pression colloïdale osmotique qui joue le rôle essentiel.

2° Action de l'hémoglobine, administrée par voie veineuse, sur le foie.

L'exploration fonctionnelle et les examens histologiques des foies de nos chiens nous ont permis de conclure que la glande hépatique peut subir un surcroît de travail après les injections d'hémoglobine par apport excessif de matière première. Mais l'organe ne s'en trouve ni lésé ni même sérieusement troublé dans son fonctionnement.

3° Action de l'hémoglobine, administrée par voie veineuse, sur la rate.

Une conclusion du même ordre paraît pouvoir être posée en ce qui concerne la rate, dont le rôle d'arrêt vis-à-vis du pigment n'entraîne qu'une suractivité fonctionnelle passagère sans provoquer d'altérations appréciables.

4° Action' toxique de l'hémoglobine, administrée par voie veineuse, sur les poumons.

Il n'en est malheureusement pas de même des poumons qui présentent, au bout de quelques jours, du fait du dépôt d'hémoglobine dans sa trame, de l'épaississement de ses parois alvéolaires. Ces lésions sont plus ou moins durables selon les animaux. Nous avons pu les voir persister encore, quoique atténuées, au bout de trois mois, chez un de nos animaux, tandis qu'elles s'étaient améliorées en deux ou trois semaines chez d'autres. Ces altérations ne s'extériorisent d'ailleurs cliniquement par aucun trouble appréciable. Elles n'en sont pas moins très nettes;

et le titre des solutions ne paraît pas avoir à cet égard la même importance que pour le rein. Les solutions à 6,5 ou 7 p. 100 ont en effet produit des modifications de la structure des parois alvéolaires aussi importantes que les solutions à 14 p. 100. Peut-être les lésions produites par les solutions à 3,5 p. 100 ont-elles été moins appréciables. Elles ne sont d'ailleurs négligeables dans aucun cas.

QUATRIÈME PARTIE

DANS QUELLE MESURE L'HÉMOGLOBINE INJECTÉE DANS LA CIRCULATION EST-ELLE UTILISÉE DANS L'ORGANISME ?

CHAPITRE PREMIER

Considérations générales sur les effets cliniquement évidents des injections de solution d'hémoglobine chez des chiens ayant subi des saignées importantes.

Si comme nous l'avons vu, de très nombreuses recherches ont été effectuées sur l'élimination ou l'évolution et les transformations de l'hémoglobine injectée dans l'organisme par un très grand nombre d'auteurs, il y en ait bien peu, semble-t-il, qui se soient attachés à rechercher si ce pigment pouvait servir de vecteur d'oxygène et effectuer éventuellement un rôle de suppléance vis-à-vis des fonctions globulaires normales.

En d'autres termes, il semble que l'on se soit assez peu préoccupé jusqu'à ce jour de savoir si l'hémoglobine injectée par voie parentérale à un organisme ayant subi d'une manière ou d'une autre une perte importante de globules rouges, était susceptible de parer ou non aux troubles de l'hématose consécutifs à cette anémie.

Il est probable que les travaux initiaux de Paul Bert,

qui, dès 1868, avait essayé sans résultat de remplacer le sang d'un chien rendu exsangue par une solution d'hémoglobine, ont dû décourager à ce sujet pas mal de chercheurs; d'autant plus, comme nous l'avons vu, que Couvreur et Clément en 1919, reprenant les expériences de Paul Bert sur le lapin, découvrirent des accidents d'intoxication aiguë rapidement mortels.

Cependant, les auteurs américains, reprenant à partir de 1930 les expériences précédentes, arrivèrent à des conclusions toutes différentes. Nous rappelons que Whipple et ses collaborateurs, injectant à faible dose répétées quotidiennement par voie intraveineuse des solutions d'hémoglobine hétérogène à des chiens en état d'anémie expérimentale, admirèrent que ces animaux étaient capables d'utiliser ce pigment pour reconstruire leur propre hémoglobine.

Peu après, Amberson et ses collaborateurs remplacèrent totalement le sang des animaux divers par des solutions de Ringer contenant de l'hémoglobine de bœuf; ils constatèrent que ces animaux pouvaient vivre pendant quelques heures. Avec des solutions fortes, le délai de survie pouvait être dans certains cas de trente-six heures. Dans les premiers moments de l'observation, les animaux se montrèrent d'ailleurs normaux, puis, ultérieurement, ils devenaient apathiques et mouraient dans le coma. Ces expériences montrent que l'hémoglobine peut suppléer aux fonctions des globules rouges dans l'hématose. Mais malheureusement, le pigment est rapidement éliminé du système circulatoire par passage à travers le rein ou fixation dans les espaces lymphatiques et les tissus, et la mort survient dans les expériences des auteurs précédents lorsque le taux de l'hémoglobine restant dans le système circulatoire n'atteint plus que 3,5 p. 100.

Sappey, pour montrer l'utilité de l'hémoglobine, a procédé d'une autre façon. Il se plaça dans les conditions où l'on se trouve en clinique lorsqu'une transfusion de sang

seule peut sauver un blessé ayant subi une déperdition de sang mortelle. Il saigna donc des animaux dans des proportions considérables, correspondant à 50 cc. par kilogramme du poids du corps, puis il leur injecta aussitôt après des volumes de solutions d'hémoglobine correspondant en général à la moitié du volume du sang prélevé.

Par comparaison avec des animaux saignés dans de mêmes conditions et traités aussitôt après par administration seulement du sérum physiologique, ou mieux encore, ne subissant aucun traitement ultérieur, il conclut que l'hémoglobine exerçait une influence salvatrice indubitable. C'est ainsi que sur trois chiens saignés dans les conditions précédentes et ultérieurement soumis à une injection intraveineuse de sérum physiologique, deux moururent en quelques heures, et le troisième ne survécut qu'après avoir présenté un état très alarmant pendant plusieurs jours. Par ailleurs, cinq chiens saignés comme il est indiqué ci-dessus, et n'ayant subi par la suite aucun traitement, moururent très rapidement. Au contraire, dans tous les cas où l'auteur put injecter à temps une solution d'hémoglobine, les animaux survécurent avec ou sans accidents ultérieurs de néphrites, selon le degré de concentration en hémoglobine du liquide de transfusion.

Nous n'avons pas répété les expériences de Sappey, en ce sens que nous n'avons pas réalisé chez nos animaux de prélèvement de sang aussi important, au lieu de 50 cc. de sang par kilogramme de poids du corps, nous n'avons généralement enlevé que 30 cc., plus rarement 40 cc.

Ces conditions expérimentales nous ont permis cependant de constater, comme l'avait déjà fait Sappey, le bienfait incontestable que les animaux retirent immédiatement de ces injections. Tandis qu'après la saignée, et à des degrés d'ailleurs très variables d'un animal à l'autre, les chiens, qui au début de l'expérience se débattaient et hurlaient violemment, se montraient au contraire abattus et comme résignés; très rapidement après le début de

l'injection de l'hémoglobine, ils recommencent à s'agiter et à crier. Alors qu'en fin de saignée les mouvements respiratoires se montrent généralement faibles, superficiels, très rapides ou au contraire très lents, selon les cas, alors que le pouls devient incomptable et dépressif, que les muqueuses sont décolorées, que les extrémités sont refroidies, que la température s'est abaissée, très rapidement, au cours de l'administration de l'hémoglobine dans les veines, la respiration devient plus ample et plus régulière, à tel point qu'au début les animaux paraissent pousser comme un profond soupir, le pouls se ralentit, il se montre mieux frappé, les muqueuses se recolorent, les extrémités se réchauffent, et bientôt la température rectale redevient normale.

Chez deux chiens témoins, traités par du sérum physiologique, et dont nous rapportons les observations dans un des chapitres suivants, les transformations dans l'état général ont été beaucoup moins marquées. Mis à terre après l'expérience, ces deux animaux, qui n'avaient pourtant pas subi de saignée mortelle, se sont montrés apathiques, restant affalés dans un coin, et paraissaient profondément abattus. Au contraire, les chiens que nous avons soumis aux injections de solutions d'hémoglobine aussitôt après l'expérience, se sont généralement montrés vigoureux et alertes, allant et venant avec entrain dans la pièce et parfois même mangeant avec avidité leur soupe. De telles différences ne peuvent évidemment s'expliquer que par suite de l'injection. Les animaux avaient récupéré une partie du volume de leur masse sanguine car les quantités de liquide injecté furent les mêmes dans les cas des chiens traités par du sérum physiologique comme dans celui de ceux traités par l'hémoglobine; il est donc certain que cette dernière substance a combattu avec une efficacité particulière les troubles fonctionnels ou occasionnés par la saignée.

Nos expériences comparatives d'instillation continue de

solutions d'hémoglobine ou de sérum physiologique à des animaux saignés et anesthésiés, parurent également démonstratives à cet égard. Sur deux chiens ainsi traités par l'hémoglobine, l'un survécut et se comporta d'ailleurs très rapidement comme un animal normal; l'autre mourut au bout de sept heures de perfusion alors qu'il avait reçu, durant cet intervalle de temps, 280 cc. de solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100. Nous verrons dans un des chapitres suivants, que les fonctions d'hématose de cet animal s'étaient cependant considérablement améliorées du fait d'instillation de l'hémoglobine dans les humeurs, mais, quoi qu'il en soit, il faut tenir compte de ce fait que les témoins soumis après saignée à une simple instillation de sérum physiologique sont morts tous deux, l'un au bout de deux heures, l'autre au bout de six heures.

Les différentes expériences précédentes au cours desquelles on s'est attaché à mettre chimiquement en évidence un effet salvateur de l'hémoglobine, sont certes fort intéressantes; mais il nous a semblé qu'elles avaient besoin d'être étayées par des recherches d'ordre biologique, destinées à résoudre la question de savoir si oui ou non l'hémoglobine est susceptible de remplacer les globules rouges dans leur rôle de vecteur d'oxygène. C'est la raison pour laquelle nous avons entrepris les longues et minutieuses recherches que nous allons maintenant exposer dans les chapitres suivants.

CHAPITRE II

Méthodes d'observations et techniques concernant l'étude de l'action de l'hémoglobine dans le processus de l'hématose chez nos chiens.

I. — MÉTHODES D'OBSERVATION

Ces recherches furent effectuées sur un certain nombre de chiens, dont les observations ont été consignées dans la partie précédente, ou qui seront mentionnées en temps voulu.

Rappelons que ces animaux furent tous saignés en un seul temps, d'une valeur correspondant à 30 cc. de sang par kilogramme du poids du corps; tous reçurent, à l'exception de deux chiens témoins, immédiatement après la saignée, une injection, soit de sérum physiologique, soit de sang total de chien, soit d'une solution d'oxyhémoglobine à 14, 6,5 ou 3,5 p. 100, isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale, filtrée sur filtre Seitz stérilisant, et conservés jusqu'au moment de l'emploi à la glacière à +4°.

Les prélèvements sanguins, aux fins d'analyse, furent toujours effectués avant la saignée, à la fin de la saignée, quelques minutes après l'injection, puis deux heures, quatre heures, six heures, huit heures, vingt-quatre heures après celle-ci, une fois par jour les jours suivants, et enfin une fois par semaine les semaines suivantes.

Le sang fut prélevé par ponction veineuse sans garot, sous huile de paraffine et en présence d'un anti-coagulant constitué par un mélange de deux parties d'oxalate de K

pour une partie de fluorure de Na. Les dosages étaient effectués aussi rapidement que possible après le prélèvement.

II. — MÉTHODES DE DOSAGE UTILISÉES

a) *Dosage de l'hémoglobine.* — Ce dosage fut effectué avec l'hémomètre de Zeiss, suivant la technique habituelle.

b) *Dosage de l'oxygène combiné à l'hémoglobine.* — Deux méthodes s'offraient à nous pour cette détermination : celle de van Slyke par extraction par le vide, et celle de Haldane dans sa dernière mise au point datant de 1921. C'est à cette dernière que nous avons eu recours. Elle est en effet, semble-t-il, plus pratique que celle de van Slyke, et donne des résultats aussi satisfaisants ainsi que l'ont montré Bierring et Nielsen. Rappelons brièvement le mode opératoire :

Dans chaque ballon de l'appareil, on mesure 2 cc. d'une solution de carbonate de soude N/10; dans l'un d'eux on mesure sous cette solution 2 cc. de sang prélevé sous huile de paraffine. On adapte convenablement les ballons aux tubes manométriques de l'appareil et on les plonge dans un cristalliseur plein d'eau servant de thermostat. On attend dix minutes que l'équilibre de température soit établi. On amène les niveaux d'eau à la graduation 60 environ de l'appareil, et on agite chaque récipient durant cinq minutes. L'oxygène de l'air contenu dans les ballons vient se fixer sur l'hémoglobine non oxygénée. On attend cinq minutes que l'équilibre des températures se soit établi et on effectue alors la lecture après avoir compensé la déperdition de pression, au moyen du tube manométrique. Soit x centième de cc. la déperdition de volume observée : la quantité d'oxygène absorbée pour cent est donnée par l'équation suivante :

$$\text{O. absorbé p. 100} = \frac{r \ x}{2} - 0,96 + (t-15) \ 0,038.$$

r est le coefficient de correction des gaz donné par les tables de correction en fonction de la température extérieure et de la pression atmosphérique. Le nombre obtenu correspond donc à la quantité d'oxygène qui a disparu du sang lors du passage de ce dernier dans les tissus, c'est ce que nous appellerons *l'oxygène absorbé*.

Après cette opération, toute l'hémoglobine du sang est sous forme d'oxyhémoglobine. On mesure alors la quantité totale d'oxygène fixée sur cette hémoglobine; pour cela on opère de la façon suivante : on introduit sur le mélange sang oxygéné-carbonate de soude un peu de saponine destinée à lyser les globules rouges; dans le petit godet contenu dans chaque ballon, on ajoute 0,25 cc. d'une solution saturée, préparée extemporanément, de ferri-cyanure de K. Quand l'équilibre de température est obtenu, on amène le volume du liquide dans la tige graduée à un niveau un peu inférieur à la graduation zéro. On ferme les robinets, on équilibre exactement les niveaux, et on agite les ballons après les avoir inclinés, réalisant ainsi le mélange du ferri-cyanure et du liquide sous-jaçant. On agite durant quatre à cinq minutes. On attend que l'équilibre de température soit obtenu, et on effectue la lecture dans les mêmes conditions que précédemment. La quantité d'oxygène p. 100 est donnée par la formule :

$$Q. \text{ oxygène p. } 100 = \frac{r \times}{2}$$

Dans cette opération, on a dégagé tout l'oxygène fixé sur l'hémoglobine, qui avait été transformée dans le temps précédent intégralement en oxyhémoglobine.

Le nombre ainsi obtenu s'appelle « *capacité totale en oxygène* ». Il représente donc la quantité maxima d'oxygène que pouvait fixer 100 cc. de sang, c'est-à-dire, à peu de chose près, la teneur en oxygène de l'hémoglobine du sang artériel.

La différence entre la valeur de la capacité totale de l'oxygène et de celle de l'oxygène absorbé nous donne la quantité d'oxygène qui était contenue dans le sang veineux au moment de son prélèvement. C'est l'*oxygène du sang*.

En outre, on établit une relation entre l'oxygène contenu dans le sang et la capacité totale en oxygène. Cette valeur s'appelle « *saturation oxyhémoglobinée* ». Elle s'obtient par le calcul suivant :

$$\frac{\text{oxygène contenu dans le sang}}{\text{capacité totale en oxygène}} \times 100 = \text{saturation oxyhémoglobinée}$$

Elle représente la quantité d'oxyhémoglobine pour 100 d'hémoglobine totale.

En résumé, par les mesures effectuées sur 2 cc. de sang veineux, avec l'appareil et la technique d'Haldane, on mesure :

1° La quantité d'oxygène absorbée, c'est-à-dire approximativement la quantité d'oxygène qui a disparu dans la respiration tissulaire;

2° L'oxygène contenu dans le sang, c'est-à-dire la quantité d'oxygène qui n'a pas été utilisée dans l'organe irrigué;

3° La capacité totale en oxygène, c'est-à-dire la quantité totale d'oxygène que pouvait fixer l'hémoglobine de 100 cc. de sang;

4° La saturation oxyhémoglobine, c'est-à-dire le rapport existant entre la quantité d'oxygène fixée sur 100 cc. de sang et la quantité totale de ce gaz que pouvait fixer ces 100 cc. de sang.

Nous avons appliqué cette technique sur le sang total, mais aussi sur le plasma sanguin, quand celui-ci contenait de l'hémoglobine en solution.

c) *Gaz carbonique*. — Nous avons déterminé cette valeur avec les précautions habituelles, au moyen de la méthode et de l'appareil bien connu de Van Slyke.

CHAPITRE III

Etude des gaz du sang chez des chiens ayant subi une saignée puis une injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine.

Nous avons étudié ainsi dix chiens. Six d'entre eux reçurent des injections intraveineuses de solutions d'hémoglobine de cheval à différents titres; quatre reçurent des injections d'hémoglobine de chien. Selon le protocole qui a été signalé antérieurement, nous avons dosé dans les différents échantillons de sang prélevés l'oxygène et le gaz carbonique. Nous étudierons successivement les résultats que nous avons obtenus pour ces deux facteurs.

1° ETUDE DE L'OXYGÈNE

Nous consignerons d'abord les résultats obtenus.

(Voir tableaux et graphiques ci-après)

TABLEAU XI

VARIATIONS DE L'OXYGÈNE DU MILIEU SANGUIN CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET TRAITÉS AUSSITÔT APRÈS PAR UNE INJECTION INTRA-VEINEUSE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL A 14 P. 100, EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG PRÉLEVÉ.

TEMPS	Oxygène absorbé en cc. p. 100	Capacité totale en cc. p. 100	Oxygène du Plasma en cc. p. 100	Saturation
<i>Chien 71</i>				
Avant	4,2	22,2	18,0	81 %
Après saignée	11,9	15,9	3,9	25
Après injection	3,2	15,2	12	79
Deux heures après	7,0	13,6	6,6	48
Six heures après	6,5	13,3	6,8	51
Deuxième jour	4,4	15,2	10,8	71 %
Troisième jour	5,8	11,2	5,4	48
Quatrième jour	5,2	11,7	6,4	55
Cinquième jour	5,3	12,4	7,0	57
Sixième jour	4,8	12,6	7,8	62
<i>Chien 77</i>				
Avant	3,2	19,0	15,8	82 %
Après saignée	10,0	15,1	5,1	34
Après injection	5,1	14,7	9,6	65
Deux heures après	7,6	12,4	4,8	39
Quatre heures après ...	8,1	13,0	4,8	38
Six heures après	5,3	13,0	7,6	59
Huit heures après	5,6	12,4	6,8	55
Deuxième jour	5,0	13,7	8,6	63 %
Troisième jour	6,0	15,1	9,0	60
Quatrième jour	6,0	9,6	3,5	37
Cinquième jour	3,9	10,4	6,4	62
Sixième jour	1,9	10,8	8,8	82
Septième jour	7,2	11,2	4,0	35
Dixième jour	13,8	16,6	2,8	17

TABLEAU XII

VARIATIONS DE L'OXYGÈNE DU MILIEU SANGUIN CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET TRAITÉS AUSSITÔT APRÈS PAR UNE INJECTION INTRA-VEINEUSE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL A 6,5 P. 100, EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG PRÉLEVÉ.

TEMPS	Oxygène absorbé en cc. p. 100	Capacité totale en cc. p. 100	Oxygène du Plasma en cc. p. 100	Saturation
<i>Chien 74</i>				
Avant	2,3	17,5	15,1	86 %
Après saignée	11,5	13,8	2,3	17
Après injection	2,8	12,9	9,1	76
Deux heures après	2,0	13,7	11,6	85
Quatre heures après ...	1,6	13,7	12,0	88
Six heures après	1,8	14,9	13,1	88
Huit heures après	3,1	13,2	10,1	76
Deuxième jour	6,8	12,0	5,2	43 %
Troisième jour	4,9	10,6	5,7	54
Quatrième jour	4,5	10,0	5,5	55
Cinquième jour	3,9	10,4	6,4	62
Sixième jour	2,8	12,2	9,4	77
Huitième jour	2,8	12,2	9,4	77
Deuxième semaine	2,2	13,9	11,7	84
Troisième semaine	3,0	12,7	9,7	77
Quatrième semaine	4,6	18,5	13,9	75
Cinquième semaine ...	2,2	18,4	16,1	87
<i>Chien 75</i>				
Avant	2,6	18,6	16,0	86 %
Après saignée	17,1	18,8	1,7	10
Après injection	5,1	14,9	9,7	65
Deux heures après	1,4	12,2	10,7	80
Quatre heures après ...	1,9	10,5	8,6	82
Six heures après	0,7	11,1	10,4	92
Huit heures après	1,0	11,1	10,0	90
Deuxième jour	4,3	10,2	5,9	58 %
Quatrième jour	3,0	11,1	8,1	75
Cinquième jour	2,7	10,6	7,9	74
Septième jour	3,2	11,3	8,1	72

TABLEAU XIII

VARIATIONS DE L'OXYGÈNE DU MILIEU SANGUIN CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET TRAITÉS AUSSITÔT APRÈS PAR UNE INJECTION INTRA-VEINEUSE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL A 3,5 P. 100, EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG PRÉLEVÉ.

TEMPS	Oxygène absorbé en cc. p. 100	Capacité totale en cc. p. 100	Oxygène du Plasma en cc. p. 100	Saturation
<i>Chien 73</i>				
Avant	2,3	21,7	19,3	89 %
Après saignée	9,5	14,9	5,3	36
Après injection	3,2	14,1	10,9	77
Six heures après	2,7	14,9	12,1	82
Deuxième jour	5,7	12,7	6,9	55 %
Troisième jour	7,7	12,5	4,7	38
Quatrième jour	6,7	12,1	5,4	45
Sixième jour	8,0	14,8	6,8	46
Septième jour	6,1	12,4	6,3	51
<i>Chien 76</i>				
Avant	5,7	19,7	14,0	77 %
Après saignée	13,8	17,0	3,2	19
Après injection	5,6	14,2	9,2	64
Deux heures après	8,5	14,1	5,6	47
Quatre heures après ...	4,6	13,5	8,9	66
Six heures après	3,6	14,4	10,5	75
Huit heures après	5,2	18,4	13,1	71
Deuxième jour	4,6	11,9	7,3	61 %
Troisième jour	4,6	9,8	4,1	42
Quatrième jour	4,4	10,5	6,1	58
Sixième jour	4,7	10,5	5,7	55
Deuxième semaine	4,7	11,0	6,3	58
Troisième semaine	4,4	15,8	11,3	72
Quatrième semaine	4,2	14,1	9,8	69
Cinquième semaine ...	6,7	16,9	10,1	60
Sixième semaine	4,6	18,8	14,1	76
Septième semaine	5,1	18,3	13,2	73

TABLEAU XIV

VARIATIONS DE L'OXYGÈNE DU MILIEU SANGUIN CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET TRAITÉS AUSSITÔT APRÈS PAR UNE INJECTION INTRA-VEINEUSE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHIEN A 6,5 P. 100, EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG PRÉLEVÉ.

TEMPS	Oxygène absorbé en cc. p. 100	Capacité totale en cc. p. 100	Oxygène du Plasma en cc. p. 100	Saturation
<i>Chien 78</i>				
Avant	10,6	20,1	9,4	47 %
Après saignée	12,8	14,7	1,9	13
Après injection	6,1	11,9	5,8	48
Deux heures après	9,4	12,2	2,8	23
Quatre heures après ...	5,4	11,5	6,0	54
Six heures après	4,7	11,7	7,0	60
Huit heures après	5,1	11,0	5,9	53
Deuxième jour	6,0	11,0	4,9	45 %
Troisième jour	7,0	11,3	4,2	38
Quatrième jour	4,9	11,5	6,6	57
Cinquième jour	5,1	11,5	6,3	55
Deuxième semaine	5,5	15,2	9,6	63
Troisième semaine	6,7	14,8	8,0	54
Quatrième semaine	7,9	15,7	7,8	50
Cinquième semaine ...	7,9	16,2	8,2	51
Sixième semaine	8,4	16,4	8,0	49
Septième semaine	9,3	18,3	8,9	49
<i>Chien 84</i>				
Avant	10,2	23,2	13,0	56 %
Après saignée	19,9	23,5	3,5	15
Après injection	15,5	18,8	5,2	27
Deux heures après	7,2	19,0	11,8	62
Quatre heures après ...	6,7	17,8	11,1	62
Six heures après	6,2	15,5	9,2	60
Huit heures après	3,4	16,2	12,8	79
Deuxième jour	4,8	17,3	12,5	72 %
Troisième jour	5,3	15,7	10,3	66
Quatrième jour	7,6	16,8	9,1	54
Septième jour	6,1	17,6	11,5	65
Deuxième semaine	3,5	19,7	16,2	82
Troisième semaine	3,4	19,9	16,4	82
Quatrième semaine	7,9	20,4	12,5	61
Cinquième semaine ...	8,5	20,7	12,2	59

TABLEAU XV

VARIATIONS DE L'OXYGÈNE DU MILIEU SANGUIN CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET TRAITÉS AUSSITÔT APRÈS PAR UNE INJECTION INTRA-VEINEUSE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHIEN A 3,5 P. 100, EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG PRÉLEVÉ.

TEMPS	Oxygène absorbé en cc. p. 100	Capacité totale en cc. p. 100	Oxygène du Plasma en cc. p. 100	Saturation
<i>Chien 72</i>				
Avant	9,4	18,1	8,7	48 %
Après saignée	11,7	16,9	5,1	30
Après injection	4,1	14,3	10,3	72
Deux heures après	7,7	13,6	5,8	43
Quatre heures après ...	4,2	13,8	9,6	70
Six heures après	3,5	15,2	11,7	77
Huit heures après	4,7	12,7	7,9	63
Deuxième jour	5,3	12,2	6,8	56 %
Troisième jour	6,2	11,7	5,4	46
Quatrième jour	5,3	10,1	4,7	47
Sixième jour	5,5	10,3	4,8	47
Neuvième jour	5,7	11,1	5,4	49
Deuxième semaine	7,0	12,1	5,2	43
Troisième semaine	4,6	14,1	9,4	67
Quatrième semaine	4,4	14,1	9,7	68
Cinquième semaine ...	5,4	14,3	8,8	62
Sixième semaine	7,0	15,2	8,2	54
<i>Chien 79</i>				
Avant	5,6	19,4	13,8	71 %
Après saignée	17,5	19,2	1,7	9
Après injection	9,2	14,6	5,3	37
Deux heures après	2,9	11,8	8,9	75
Quatre heures après ...	4,6	11,6	7,0	60
Six heures après	1,8	14,4	12,5	87
Huit heures après	3,4	14,1	10,7	76
Deuxième jour	5,3	9,9	4,7	47 %
Troisième jour	5,3	9,3	3,9	42
Cinquième jour	5,1	8,9	3,7	42
Deuxième semaine	4,9	9,6	4,6	48
Troisième semaine	4,8	13,6	8,7	64
Quatrième semaine	5,7	14,1	8,3	58
Cinquième semaine ...	6,0	16,4	10,4	63
Sixième semaine	5,8	16,9	11,1	66
Septième semaine	6,1	17,8	11,7	66

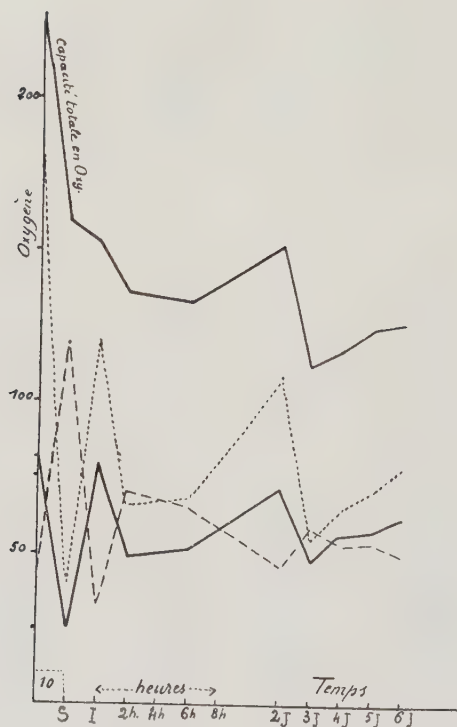


FIG. 10. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 71, traité après saignée par une injection intraveineuse d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100 (Observation IX). (Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.) S : après saignée. — I : après l'injection.

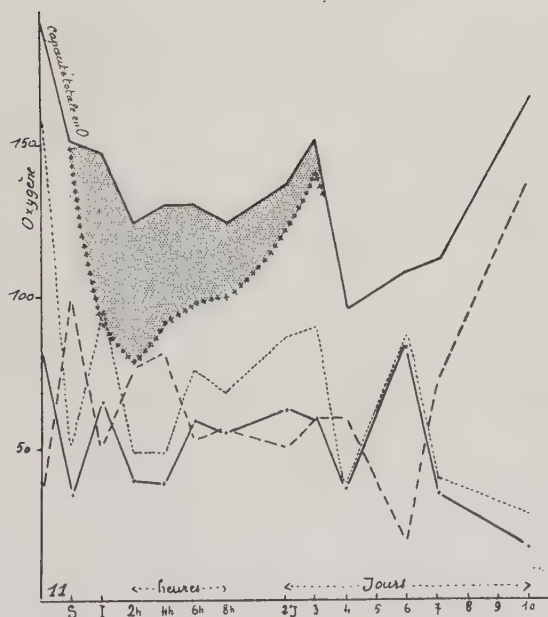


FIG. 11. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 77, traité après saignée par une injection intraveineuse d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100 (Observat. XII).

La partie ombrée correspond à l'hémoglobulinémie plasmatique.

(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

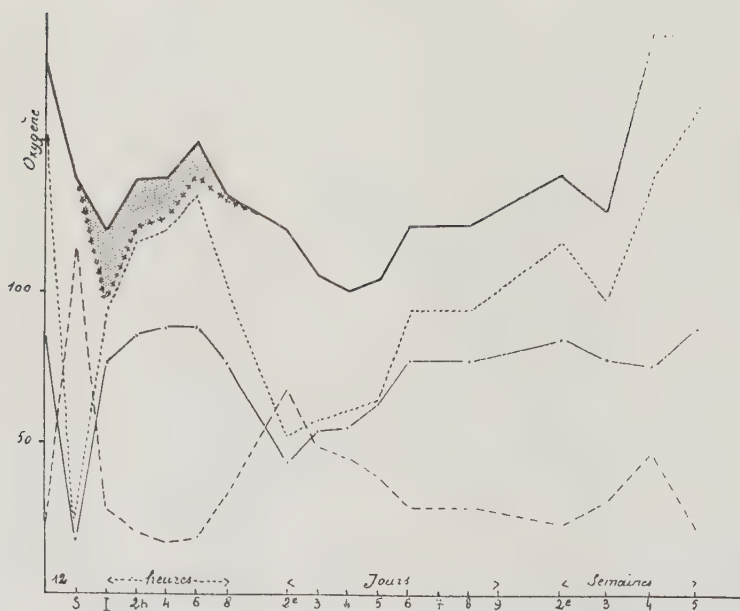


FIG. 12. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 74, traité après saignée par une injection intraveineuse d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100 (Observation X).

La partie ombrée correspond à l'hémoglobinémie plasmatique.
(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

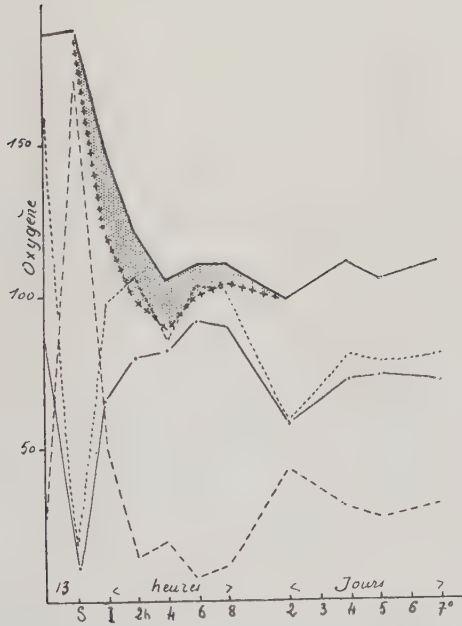


FIG. 13. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 75, traité après saignée par une injection intraveineuse d'hémoglobine de cheval à 6 p. 100 (Observ. XXXII).

La partie ombrée correspond à l'hémoglobinémie plasmatique.

(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)
S : après saignée. — I : après l'injection.

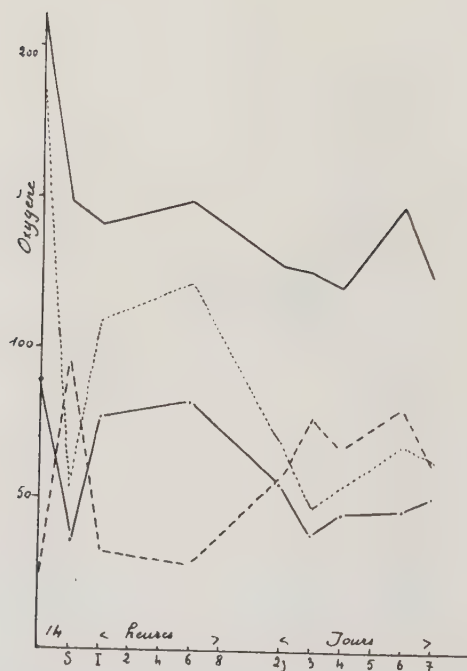


FIG. 14. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 73, traité après saignée par une injection intraveineuse d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100 (Observat. XX).
(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)
S : après saignée. — I : après l'injection.

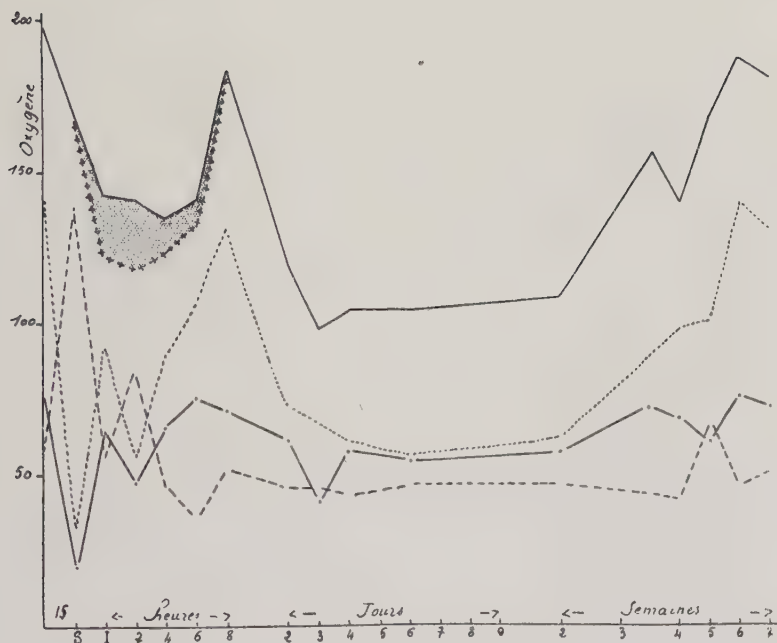


FIG. 15. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 76, traité après saignée par une injection intraveineuse d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100 (Observation XIX).

La partie ombrée correspond à l'hémoglobininémie plasmatique.
(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

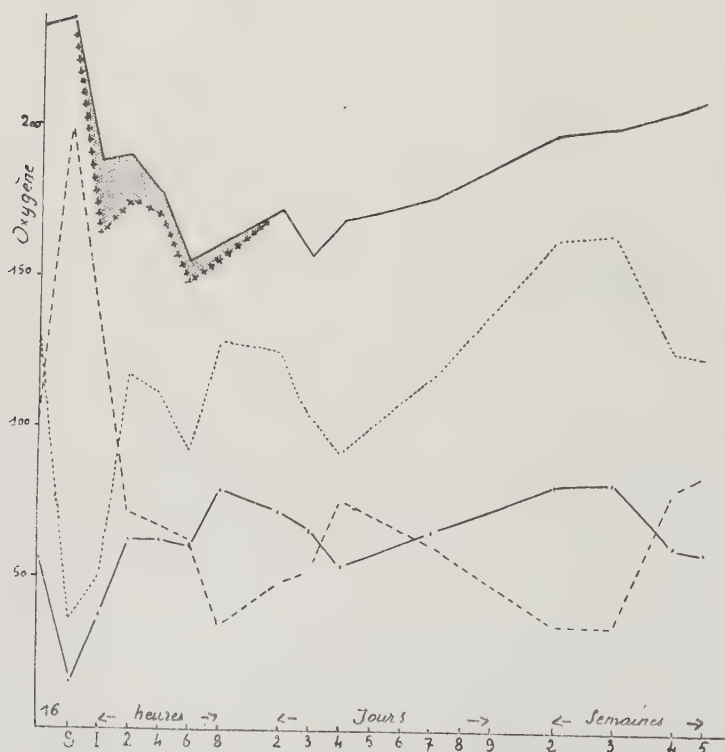


FIG. 16. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 84, traité après saignée par une injection intraveineuse d'hémoglobine de chien à 6,5 p. 100 (Observation XXXVI).

La partie ombrée correspond à l'hémoglobininémie plasmatique.
(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

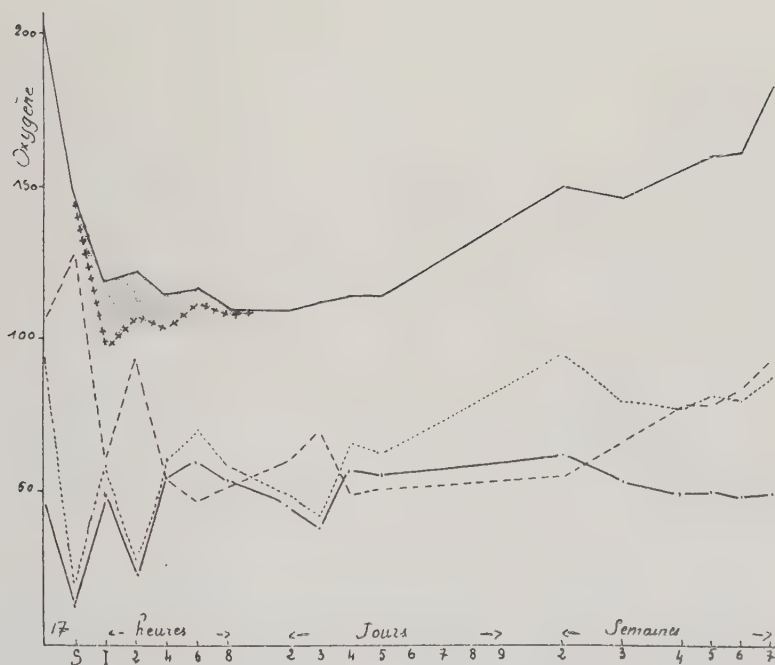


FIG. 17. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 78, traité après saignée par une injection intraveineuse d'hémoglobine de chien à 6,5 p. 100 (Observation XXXV).

La partie ombrée correspond à l'hémoglobininémie plasmatique.
(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

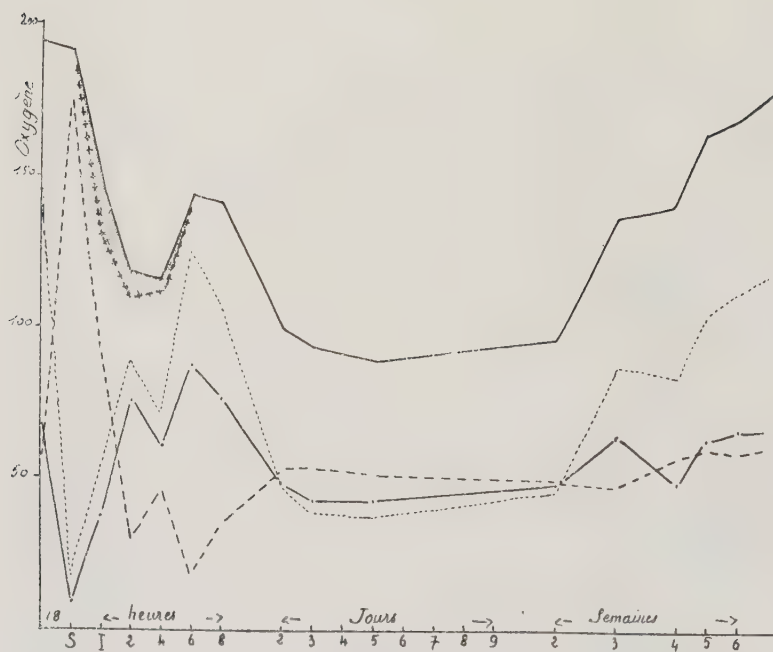


FIG. 18. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 79, traité après saignée par une injection intraveineuse d'hémoglobine de chien à 3,5 p. 100 (Observation XXI).

La partie ombrée correspond à l'hémoglobininémie plasmatique.
(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

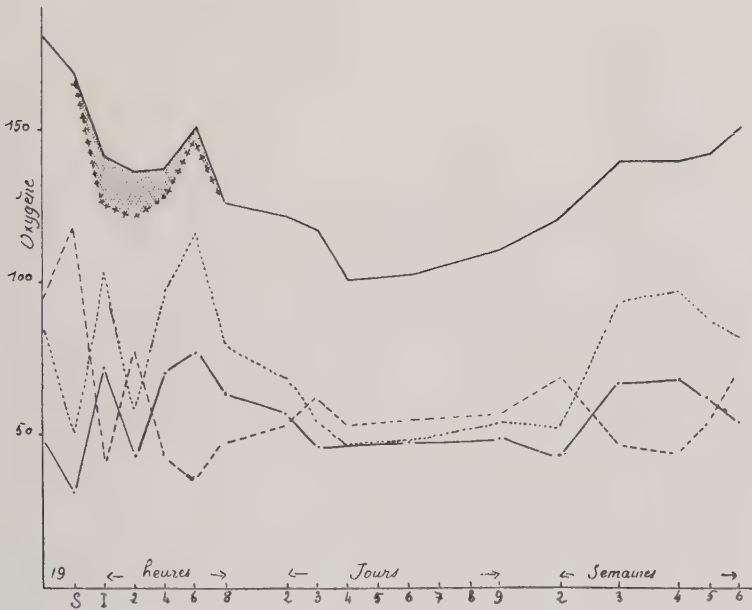


FIG. 19. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 72, traité après saignée par une injection intraveineuse d'hémoglobine de chien à 3,5 p. 100 (Observation XXII).

La partie ombrée correspond à l'hémoglobininémie plasmatique.

(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

A. — EXAMEN DES RÉSULTATS OBTENUS SUR LE SANG TOTAL

1° *Capacités totales.*

a) *A l'état normal.* — A l'état normal, cette valeur oscille entre des limites assez grandes, d'un animal à l'autre. Les valeurs moyennes observées sont de 19 p. 100; le maximum constaté fut de 23 p. 100 pour le chien 84, et le minimum 17 p. 100 pour le chien 74.

b) *Après la saignée.* — Après la saignée, on assiste généralement à une baisse de cette valeur. Cette chute peut être très très importante, comme dans le cas des chiens : 71, 73 et 77 (fig. 10, 14 et 11), chez lesquels elle fut respectivement de 28, 21 et 31 p. 100. Elle peut être aussi très faible, comme dans le cas du chien 72 (fig. 19) (8 p. 100), et des chiens 75 et 84 chez lesquels cette valeur n'a pratiquement pas varié.

c) *Immédiatement après l'injection.* — Immédiatement après l'injection, on assiste ici également à une nouvelle chute de cette valeur. Pour les solutions d'hémoglobine de concentration égales à 14 p. 100, cette chute est très faible, nettement inférieure à 10 p. 100 (chiens 71 et 77) (fig. 10 et 11). Pour les solutions égales à 6,5, elle fut respectivement pour les chiens : 74, 75, 78 et 84 (fig. 12, 13, 17, 16), de 13, 20, 20, et 20 p. 100. Pour celles de 3,5 p. 100, cette chute fut du même ordre, respectivement de 24, 19 et 19 p. 100 pour les chiens 79, 72 et 76 (fig. 18, 19 et 15).

Cette diminution de la capacité se comprend aisément, puisqu'on injecte dans la circulation sanguine un volume liquidien moins riche en hémoglobine que le sang circulant. On voit en effet que pour les solutions à 14 p. 100, l'abaissement est pratiquement nul, cette concentration étant voisine de la concentration sanguine en hémoglobine; pour les concentrations inférieures, au contraire cet abais-

sement est beaucoup plus important, voisin de 20 p. 100.

d) *Dans les premières heures et les jours suivants.* — La valeur de la capacité totale diminue encore, mais avec une intensité beaucoup plus faible, variable d'un animal à l'autre. Chez les chiens à 14 p. 100, l'abaissement est peu important et ne dépasse pas 10 p. 100. Chez les chiens à 6,5 p. 100, la chute peut continuer aussi intense jusqu'à la quatrième heure, puis se stabiliser (chien 75) (fig. 13). Elle peut au contraire rester en palier (chiens 72, 73, 76, 78, fig. 19, 14, 15, 17) ou même augmenter légèrement (chiens 74, fig. 12). Il en est de même pour les chiens à 3,5 p. 100.

Ces variations individuelles sont liées à un certain nombre de facteurs; les uns, tels que l'élimination de l'hémoglobine injectée par le rein, ou sa fixation sur certains organes, l'appel d'eau des tissus, tendant à diminuer la concentration en hémoglobine; les autres, tels que la diurèse, la contraction de la rate, l'élimination d'eau pulmonaire, tendant au contraire à enrichir le sang en ce pigment. Les résultats des actions antagonistes de ces divers facteurs sont variables chez les divers animaux, mais, d'une façon générale, on peut dire qu'il y a un abaissement net, durant les heures suivant l'injection, du taux de l'hémoglobine, c'est-à-dire de la capacité totale en oxygène.

Il faut remarquer le phénomène suivant : on constate, quelle que soit la concentration de l'hémoglobine injectée, au bout d'un certain temps, une réascension de la capacité totale, réascension qui peut être peu marquée, tel que chez les chiens 73, 75 et 78 (fig. 14, 13 et 17), soumis à une injection d'hémoglobine à 6,5 p. 100, mais qui, la plupart du temps, est très nette, et peut être même assez considérable (chiens 71, 72, 74, 76, 77, 79 et 84; fig. 10, 19, 12, 15, 11, 18 et 16). Or, en confrontant ce fait avec les dosages d'hémoglobine, d'une part dans les urines et de l'autre dans

le plasma, on est frappé par la coïncidence qui existe entre cette augmentation et la fin, soit de l'hémoglobinurie, soit de l'hémoglobinémie.

En outre, on constate qu'après cette réascension passagère, survient généralement une chute très rapide, très importante, qui se poursuit encore quelques jours, mais à un rythme moins accéléré, pour enfin se stabiliser.

A partir de ce moment, la quantité d'hémoglobine sanguine remonte à un rythme d'ailleurs plus ou moins accéléré, variable d'un animal à l'autre, et selon les circonstances de l'opération, pour atteindre en un temps plus ou moins long sa valeur initiale.

2° *Oxygène absorbé.*

Nous rappelons que cette valeur correspond à toute l'hémoglobine sanguine, qui n'est pas sous forme oxygénée.

a) *Après la saignée.* — Immédiatement après la saignée, on constate que cette valeur augmente dans des proportions souvent considérables, elle passe de :

4,2 à 11,9 p. 100 pour le chien 71 (fig. 10).

3,2 à 10,0 p. 100 pour le chien 77 (fig. 11).

2,3 à 11,5 p. 100 pour le chien 74 (fig. 12).

2,6 à 17,1 p. 100 pour le chien 75 (fig. 13).

Ce phénomène peut s'interpréter aisément, si l'on considère le besoin d'oxygène tissulaire, comme constant durant le temps relativement court que dure la saignée, le volume du tissu sanguin étant fortement réduit. Ce dernier doit donc céder une proportion plus grande de son oxygène, entraînant de ce fait l'accroissement de ce facteur, qui peut être quintuplé.

b) *Immédiatement après l'injection.* — D'une façon générale, immédiatement après l'injection, l'oxygène absorbé diminue considérablement. On peut même dire

qu'il revient à sa valeur initiale, et cela, quel que soit le titre de la solution injectée. C'est ce qui s'est passé notamment chez les chiens 71, 73, 74, 76, 77, 79, 75 (fig. 10, 14, 12, 15, 11, 18 et 13). Mais chez certains chiens, qui possédaient une valeur élevée de cet oxygène absorbé à l'état normal, s'est produit un abaissement beaucoup plus prononcé de cette valeur après l'injection (chiens 84, 78, 72, fig. 16, 17 et 19).

D'une façon générale, on peut dire que cette diminution est liée à l'injection d'oxyhémoglobine qui apporte ainsi à l'organisme une quantité importante d'oxygène, vraisemblablement utilisée dans les tissus.

c) *Durant les heures et les jours suivant l'injection.* — Dans les heures qui suivent l'injection, on assiste généralement à des oscillations de l'oxygène absorbé. Au bout de la deuxième heure, on constate généralement une réascension. Au bout de la quatrième heure, une diminution. Ces modifications s'inscrivent sur nos courbes sous la forme d'un petit clocher. Ce fait est d'ailleurs important. L'organisme passe en effet une période de réactions, qui peuvent se manifester d'une façon différente d'un animal à l'autre. Tout ce qu'on peut dire, c'est que dans les heures et les jours suivants, la valeur de l'oxygène absorbé, après quelques oscillations d'amplitude plus ou moins grandes, tend à regagner sa valeur initiale.

3° *Oxygène du sang.*

C'est la quantité d'oxygène fixé sur l'hémoglobine sanguine, que cette dernière soit contenue ou non dans les hématies.

Cette valeur suit évidemment une variation inverse de celle de l'oxygène absorbé.

a) *Immédiatement après la saignée.* — Après la saignée, l'oxygène du sang est considérablement abaissé, par rapport à son taux normal.

Il passe de :

14,0 à 3,2 p. 100 pour le chien 76 (fig. 15).

9,4 à 1,9 p. 100 pour le chien 78 (fig. 17).

13,0 à 3,6 p. 100 pour le chien 84 (fig. 16),

etc....

C'est un phénomène constant. Cet oxygène qui reste dans le sang est celui qui n'a pas été absorbé par les tissus. On voit donc qu'une saignée de l'ordre de 30 cc. de sang par kilogramme de poids du corps amène une diminution considérable de la quantité d'oxygène du sang veineux.

b) *Immédiatement après l'injection*, l'oxygène du sang augmente très rapidement, comme on peut s'en rendre compte par une vue d'ensemble des graphiques ci-joints. Cet accroissement semble en relation avec l'apport en oxygène, de l'oxyhémoglobine injectée, et peut-être aussi du fait de l'augmentation de la fréquence et de l'amplitude du rythme respiratoire suivant l'injection de l'hémoglobine chez l'animal. Il est toutefois à remarquer que le taux de l'oxygène du sang n'atteint jamais, ou très rarement, sa valeur initiale. Il est vrai qu'à ce moment la quantité totale d'hémoglobine sanguine est nettement inférieure à la valeur qu'elle avait chez les chiens normaux.

c) *Dans les heures et les jours suivant l'injection*. — Durant les premières heures, l'oxygène du sang décroît généralement. On peut voir sur la courbe représentative de cette valeur, comme dans le cas de l'oxygène absorbé, un clocher très net (chiens 78, 76, 79, 72, 71, 77; fig. 17, 15, 18, 19, 10 et 11). Mais ce fait peut être plus ou moins marqué, ou même inconstant (chiens 75 et 74, fig. 13 et 12).

D'une façon générale, on peut dire que l'oxygène du sang subit des fluctuations en relation avec les perturbations occasionnées par la saignée, sans qu'on puisse lui assigner une constance physiologique. Malgré tout, et ceci est très

net chez les chiens 71 et 77 (fig. 10 et 11) ayant reçu de l'hémoglobine à 14 p. 100, et chez les chiens 72, 73, 76 et 79 (fig. 19, 14, 15 et 18) ayant reçu de l'hémoglobine à 3,5 p. 100. On constate pour tous ces animaux la présence d'un nouveau clocher sur les courbes représentatives de l'oxygène du sang au moment même où cesse l'hémoglobinurie. Cette pointe est d'ailleurs suivie, quelle que soit la concentration de l'hémoglobine utilisée, d'une chute très marquée et très importante de cette valeur, chute qui correspond d'ailleurs, il est vrai, à l'abaissement de la concentration en hémoglobine totale du sang.

Dans les jours suivants, l'oxygène du sang revient peu à peu à son taux initial.

4° *Coefficient ou saturation oxyhémoglobine*

C'est, nous le rappelons, la quantité d'oxyhémoglobine contenue dans cent parties d'hémoglobine sanguine.

C'est, à notre avis, un des meilleurs tests permettant d'interpréter les processus de l'hématose. Il est manifeste que la quantité d'oxygène fixée ou non sur l'hémoglobine sanguine est fonction de la concentration de ce pigment dans le sang. Raisonner ici en valeur absolue entraînerait à de graves erreurs du fait de la variation continuelle de la concentration de l'hémoglobine sanguine. La quantité d'oxyhémoglobine du sang, après passage de ce dernier dans les tissus, est fonction de l'activité du tissu lui-même, mais aussi de l'apport quantitatif d'oxyhémoglobine. Ceci est bien prouvé par l'élévation considérable de l'oxygène absorbé immédiatement après la saignée. Pour se libérer de cette notion de quantité d'hémoglobine, il n'y a qu'à établir un rapport et ramener la quantité d'oxygène à 100 grammes d'hémoglobine : c'est justement cette valeur que nous donne ce rapport.

1° *A l'état normal.* — Ce facteur, à l'état normal, varie

d'un animal à l'autre dans d'assez larges limites. Il semble d'ailleurs que ce soit une constante de son organisme, car dans nos premières expériences, nous avons effectué chez un même chien à plusieurs jours d'intervalle, une telle mesure qui nous a toujours sensiblement donné les mêmes résultats, toutes conditions expérimentales étant d'ailleurs strictement identiques.

Les valeurs trouvées peuvent être assez élevées. Par exemple, elles furent respectivement chez les chiens 73, 77, 71, 74, 75, de 89, 82, 81, 86, 86 p. 100, mais les rapports furent aussi quelquefois plus bas. Ils furent de 56, 47, 48 p. 100 chez les chiens 84, 78, 72.

b) *Après la saignée.* — Après la saignée, le coefficient oxyhémoglobiné diminue considérablement. On constate qu'en moyenne il ne reste plus que 15 à 20 p. 100 d'oxygène fixé sur l'hémoglobine sanguine. Parfois, on peut obtenir des chiffres plus élevés, tels que ceux fournis par les chiens 77, 71, 73 (fig. 11, 10 et 14) qui ont montré des valeurs respectives de 32, 25, 35 p. 100. Mais on obtient aussi des chiffres beaucoup plus bas. Ils furent trouvés de 10, 12, 9 p. 100 chez les chiens 75, 78, 79 (fig. 13, 17 et 18).

Il ne semble pas d'ailleurs qu'il existe aucune relation entre l'intensité de la chute du coefficient après saignée et la valeur de ce facteur à l'état initial.

c) *Immédiatement après l'injection.* — Immédiatement après l'injection, le coefficient oxyhémoglobiné remonte aux environs de sa valeur primitive sans qu'on puisse établir une relation entre l'intensité de cette remontée et la concentration de la solution d'hémoglobine injectée. Une simple vue d'ensemble des différents graphiques renseigne parfaitement à ce sujet.

d) *Dans les heures et les jours suivant l'injection.* — On constate dans les heures suivant l'injection que le coefficient reste à une valeur élevée et dépasse même quelque-

fois son taux initial. Par exemple, pour les chiens 78 et 84, 74 et 75, traités avec de l'hémoglobine à 6,5 p. 100, la courbe se présente sous forme d'un véritable « dôme ». Ce dôme est très peu marqué pour les animaux qui furent traités par des solutions à 3,5 p. 100; et, dans ces cas, on assiste à la formation d'une dent de scie dirigée vers le bas, avec minimum pour la deuxième heure après l'injection. Dans le cas des chiens traités par des solutions à 14 p. 100, on observe au contraire un abaissement immédiat de cette valeur au cours des premières heures.

Après cette réascension qui peut être plus ou moins importante, on assiste vers la huitième heure ou plus tard, à une baisse lente du coefficient, qui présente un affaissement brusque et tombe à un taux nettement inférieur à son taux initial, ce qui coïncide encore avec la fin de l'hémoglobinémie. Ce fait est particulièrement net chez les chiens traités par de l'hémoglobine à 14 p. 100 (71 et 77, fig. 10 et 11); moins marqué chez ceux qui reçurent de l'hémoglobine à 6,5 et à 3,5 p. 100, quoi qu'il soit toutefois nettement indiqué par l'allure générale de la courbe. Il est vrai que dans ces deux derniers cas, les prises de sang ne purent être effectuées, la fin de cette hémoglobinémie s'étant produite dans la nuit suivant l'injection. Mais on note toujours ici, le lendemain, un fort abaissement du coefficient par rapport à sa valeur de la veille.

Durant les jours et les semaines suivantes, après quelques oscillations, la saturation oxyhémoglobinée revient peu à peu à son taux initial.

B. — EXAMEN DES RÉSULTATS OBTENUS SUR LE PLASMA

Les dosages précédents ne nous montrent que la variation totale des phénomènes se passant dans le sang complet, globules rouges et plasma hémoglobiné.

Nous avons cherché à pousser le problème plus loin en

effectuant des dosages d'oxygène hémoglobinique sur le plasma lui-même dans les mêmes conditions que précédemment et sur les mêmes échantillons.

Les résultats sont mentionnés dans les tableaux ci-joints.

TABLEAU DES DIFFÉRENTES VALEURS DE L'OXYGÈNE
DANS LE PLASMA SANGUIN DE CHIENS HÉMOGLBINÉS

1° Hémoglobine de cheval

	HbO 14 p. 100 <i>Chien 71</i>				HbO 6.5 p. 100 <i>Chien 74</i>			
	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100
Après injection ..	1,8	5,7	3,8	68	1,0	2,3	1,3	56
2 heures après ..	1,0	4,7	3,6	77	0,6	1,6	1,0	63
4 heures après ..	1,0	3,7	2,7	72	0	1,3	1,3	100
6 heures après ..	0,6	3,0	2,4	85	0	1,6	1,6	100
8 heures après ..	0	2,4	2,4	100	0	tr.	tr.	»
Deuxième jour ..	0	1,5	1,5	100	0	0	0	»
Troisième jour ..	0	0,9	0,9	100	0	0	0	»
Quatrième jour ..	0	0	0	»	0	0	0	»

	HbO 6,5 p. 100 <i>Chien 75</i>				HbO 3,5 p. 100 <i>Chien 76</i>			
	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100
Après injection ..	0,9	2,8	1,8	65	1,0	2,0	1,0	50
2 heures après ..	0,5	2,1	1,6	75	1,2	2,0	0,8	41
4 heures après ..	0	1,6	1,0	100	0,6	1,6	1,0	63
6 heures après ..	0	1,1	1,1	100	0	0,7	0,7	100
8 heures après ..	0	0,5	0,5	100	0	0	0	»
Deuxième jour ..	0	0	0	»	0	0	0	»

2° Hémoglobine de chien

	HbO 6,5 p. 100				HbO 6,5 p. 100			
	Chien 78				Chien 84			
	oxygène absorbé	capacité totale	oxygène du sang	saturation p. 100	oxygène absorbé	capacité totale	oxygène du sang	saturation p. 100
Après injection ..	0,9	2,1	1,2	55	0,6	2,3	1,7	73
2 heures après ..	0	1,4	1,4	100	0	1,7	1,7	100
4 heures après ..	0	1,1	1,1	100	0	0,7	0,7	100
6 heures après ..	0	0,5	0,5	100	0	0,6	0,6	100
8 heures après ..	0	tr.	tr.	»	0	0,5	0,5	100

	HbO 3,5 p. 100				HbO 3,5 100			
	Chien 72				Chien 79			
	oxygène absorbé	capacité totale	oxygène du sang	saturation p. 100	oxygène absorbé	capacité totale	oxygène du sang	saturation p. 100
Après injection ..	0	1,7	1,7	100	0	1,6	1,6	100
2 heures après ..	0	1,4	1,4	100	0	0,8	0,8	100
4 heures après ..	0	0,9	0,9	100	0	0,4	0,4	100
6 heures après ..	0	0,4	0,4	100	0	tr.	tr.	»
8 heures après ..	0	tr.	tr.	»	0	0	0	»

TABLEAU DES DIFFÉRENTES VALEURS DE L'HÉMOGLOBINE TOTALE DOSÉE
A L'HÉMOGLOBINIMÈTRE ZEISS SUR LE SANG TOTAL AVANT ET APRÈS
INJECTION DE SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE A DIFFÉRENTS TITRES.

1° Hémoglobine de cheval

Chiens n°	HbO 14 p. 100				HbO 6,5 p. 100			
	71		77		74		75	
	Sg. tot.	Plasm.	Sg. tot.	Plasm.	Sg. tot.	Plasm.	Sg. tot.	Plasm.
Normal	16,2	0	14,2	0	13,2	0	14,0	0
Après saignée ...	12,0	0	11,2	0	10,1	0	14,2	0
Après injection ..	11,4	3,8	10,9	4,2	8,9	2,0	11,6	2,0
2 heures après ..	»	»	9,1	3,4	10,2	1,2	9,6	1,8
4 heures après ..	»	»	9,8	2,8	10,2	1,0	8,0	1,3
6 heures après ..	12,6	2,5	10,2	2,5	11,1	0,8	8,4	0,9
8 heures après ..	»	»	9,2	1,8	9,9	0,3	8,4	0,5
Deuxième jour ..	12,3	0,9	10,1	1,1	9,4	0	7,8	0
Troisième jour ..	9,2	tr.	11,1	0,4	8,5	0	8,4	0

Chiens n°	HbO 3,5 p. 100			
	73		76	
	Sg. total	Plasm.	Sg. total	Plasm.
Normal	16,5	0	14,4	0
Après saignée . . .	12,0	0	12,8	0
Après injection . .	12,0	1,5	11,0	1,5
2 heures après . .	»	»	10,5	1,5
4 heures après . .	»	»	10,0	1,2
6 heures après . .	11,9	0,6	10,4	0,5
8 heures après . .	»	»	13,0	0,1
Deuxième jour . .	8,8	0	8,8	0
Troisième jour . .	9,2	0	7,2	0

2° Hémoglobine de chien

Chiens n°	HbO 6,5 p. 100				HbO 3,5 p. 100			
	78		84		72		79	
	Sg. tot.	Plasm.	Sg. tot.	Plasm.	Sg. tot.	Plasm.	Sg. tot.	Plasm.
Normal	14,9	0	17,2	0	13,4	0	14,4	0
Après saignée . . .	11,0	0	17,4	0	12,5	0	14,4	0
Après injection . .	8,8	1,6	13,9	1,7	10,6	1,2	11,0	1,2
2 heures après . .	9,1	1,0	14,1	1,1	10,0	1,0	8,9	0,6
4 heures après . .	8,5	0,8	13,2	0,6	10,3	0,7	8,6	0,3
6 heures après . .	8,6	0,3	11,4	0,5	11,3	0,3	10,6	0,1
8 heures après . .	8,2	0,1	12,2	0,4	9,4	0,1	10,4	tr.
Deuxième jour . .	8,3	0	12,8	tr.	9,0	0	7,4	0
Troisième jour . .	8,3	0	11,6	0	8,6	0	6,8	0

De l'ensemble de ces tableaux il semble ressortir les faits suivants :

a) *Capacité totale ou hémoglobine totale.* — Immédiatement après l'injection la quantité d'hémoglobine contenue dans le plasma sanguin est relativement élevée, et cela d'autant plus que la concentration de la solution d'hémoglobine injectée était elle-même plus forte.

Dans le cas de solutions à :

14 p. 100, on note 3,8 (chien 71, fig. 10), et 4,2 (chien 77, fig. 11).

6,5 p. 100 (hétérohémoglobine), on note 2,0 pour les chiens 74 et 75 (fig. 12 et 13).

6,5 p. 100 (homohémoglobine), on note 1,6 et 1,7 pour les chiens 78 et 84 (fig. 17 et 16).

3,5 p. 100 (hétérohémoglobine), on note 1,5 pour les deux chiens 73 et 76 (fig. 14 et 15).

3,5 p. 100 (homohémoglobine), on note 1,2 pour les deux chiens 72 et 79 (fig. 19 et 18).

Puis, l'hémoglobine décroît progressivement, par suite de son élimination et de sa fixation sur les tissus.

La fin de cette hémoglobinémie se situe pour les chiens soumis à cette solution de 14 p. 100 vers le deuxième ou le troisième jour; pour les chiens soumis à la solution à 6,5 vers la quinzième à vingtième heure; pour les chiens soumis à une solution à 3,5 p. 100, vers la douzième heure après l'injection.

En se reportant à ce que nous avons rapporté précédemment, on voit qu'il y a bien concordance entre la fin de cette hémoglobinémie et les perturbations prononcées constatées pour les différentes valeurs d'oxygène étudiées précédemment.

b) *Oxygène de l'hémoglobine du plasma.* — Les chiffres trouvés ici sont évidemment excessivement faibles et il peut même arriver pour les très faibles concentrations en hémoglobine que l'on arrive à la limite de sensibilité de l'appareil d'Haldane. Aussi nous n'effectuerons pas une étude détaillée des différentes valeurs observées; malgré tout, nous aurons avec une précision biologique suffisante une vue d'ensemble des différents phénomènes.

On ne constate l'absorption d'oxygène par l'hémoglobine du plasma sanguin que durant les premières heures après l'injection, au maximum jusqu'à la sixième heure, et dans le cas seulement d'injection de solution à 14 p. 100. Il est donc prouvé d'une façon indubitable que cette hémoglobine

globine en solution dans le plasma qui est l'hémoglobine injectée a participé effectivement, directement ou indirectement, aux phénomènes de l'hématose.

Lorsque la concentration du plasma hémoglobiné devient très faible, inférieure en moyenne à 1,5 p. 100, on ne constate plus l'absorption d'oxygène. Durant les premières heures, l'absorption est liée à l'affinité plus considérable de l'oxygène pour l'hémoglobine en solution que pour l'hémoglobine fixée sur les globules. Mais ultérieurement, l'hémoglobine du plasma se transforme en méthémoglobine comme nous l'avons constaté nous-mêmes et comme l'ont déjà signalé un certain nombre d'auteurs. Brooks, en 1931, constata cette transformation sous l'influence de la chaleur de 37°. Amberson et ses collaborateurs, chez des chats entièrement perfusés avec une solution de Ringer Locke hémoglobinée, montrèrent que le pourcentage de méthémoglobine physiologiquement inactive, croissait avec le temps dans ce liquide circulant de cet animal et cela dans les mêmes proportions qu'une solution identique conservée à 38° durant le même temps. Drabkin, en accord avec nous, montra que pour une faible hémoglobinémie consécutive à une faible injection d'hémoglobine par voie intraveineuse, cette transformation n'était pas immédiate et qu'au bout de la deuxième heure, on n'en trouvait pas encore trace dans le sang.

En résumé, d'après ce que nous avons constaté, il est donc indubitable que l'hémoglobine injectée, dissoute dans le plasma sanguin, participe à l'hématose au moins durant les premières heures, puisqu'elle est susceptible de céder son oxygène en passant dans les tissus.

2° ETUDE DU GAZ CARBONIQUE

Le gaz carbonique plasmatique ne semble qu'avoir très peu varié chez les chiens traités par des solutions d'hé-

moglobine. On peut s'en rendre compte en considérant les tableaux suivants.

VARIATIONS DU GAZ CARBONIQUE DU PLASMA SANGUIN CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET APRÈS L'INJECTION INTRAVEINEUSE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL OU DE CHIEN A DIFFÉRENTS TITRES, EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG PRÉLEVÉ.

	HbO cheval						HbO chien			
	14 p. 100		6,5 p. 100		3,5 p. 100		6,5 p. 100		3,5 p. 100	
<i>Chiens n°</i>	71	77	74	75	73	76	78	84	79	72
Normal	56	41	46	39	50	50	38	40	38	43
Après saignée ...	72	38	39	44	51	38	44	48	32	42
Après injection ..	60	28	39	40	43	38	36	36	26	44
2 heures après ..	»	30	»	41	»	40	46	32	»	38
4 heures après ..	46	38	44	40	»	39	42	40	28	36
6 heures après ..	»	38	»	39	46	39	»	44	26	36
8 heures après ..	»	36	»	»	»	41	38	48	25	38
Deuxième jour ..	50	45	40	40	46	41	40	46	36	38
Troisième jour ..	44	62	46	»	42	36	40	38	31	31
Quatrième jour ..	»	53	43	38	54	»	»	42	31	»
Cinquième jour ..	56	»	45	40	»	36	40	»	»	32
Sixième jour ...	»	43	42	»	56	»	36	»	24	»
Septième jour ..	»	43	44	40	»	»	»	38	28	41
2 ^e semaine	»	66	46	»	»	42	41	36	22	»
3 ^e semaine	»	»	45	»	»	43	32	40	24	36
4 ^e semaine	»	»	45	»	»	42	30	42	28	32
5 ^e semaine	»	»	43	»	»	30	32	42	26	34
6 ^e semaine	»	»	»	»	»	36	34	»	24	36
7 ^e semaine	»	»	»	»	»	36	36	»	»	36

CONCLUSIONS

Le problème à élucider est ici d'ordre fort complexe du fait que de nombreux facteurs viennent superposer leur action. Ces facteurs, en dehors d'ailleurs des facteurs personnels, peuvent être prévus, mais ils ne peuvent être mesurés.

Les processus de l'hématose, à l'état normal, ont été particulièrement bien exposés et étudiés dans le travail de M. Florkin, où cet auteur a passé en revue les diffé-

rents phénomènes physiologiques de la respiration tissulaire chez un grand nombre d'organismes vivants. Dans le cas d'anémie expérimentale, Lambie a décrit, au point de vue physiologique, les différents états observés; il mentionne les idées de Hoppe Seyler, reprises par Later et Bohr, expliquant un certain nombre de phénomènes par la présence dans le sang de plusieurs hémoglobines, n'ayant pas la même capacité spécifique. Ces auteurs, ainsi que Abrahamson, Haldane, Smith, et surtout Mohr, ont conclu que dans certaines conditions pathologiques, la capacité spécifique en oxygène d'une hémoglobine sanguine peut augmenter, alors que sa concentration décroît.

Mais, dans le cas des anémies expérimentales, plus particulièrement dans celui des anémies obtenues par saignée, les différents troubles et processus réactionnels de l'organisme ont été mis particulièrement au point par Delaunay, qui est arrivé aux conclusions suivantes :

Après une saignée importante, mais non mortelle, comme celles que nous avons effectuées, l'organisme se trouve en état de déséquilibre. Les deux facteurs primordiaux qui en sont la cause sont la suppression d'un nombre considérable d'hématies et la soustraction d'un volume sanguin non moins considérable. De ce fait, le fonctionnement normal de l'hématose est perturbé. L'organisme cherche à suppléer à cette déficience, surtout marquée par une carence d'apport d'oxygène aux tissus. L'intensité de la respiration tissulaire durant les premiers instants après la saignée, peut être considérée comme constante. L'organisme ayant moins de globules rouges à sa disposition augmente le potentiel d'activité de chacun d'eux, ceci en activant leur circulation par l'augmentation du rythme cardiaque et, à une échéance plus ou moins brève, par celle du rythme respiratoire.

Du fait de la diminution rapide du volume sanguin, le diamètre des vaisseaux diminue. Le cœur fonctionne donc dans de mauvaises conditions. Il tend à « s'emballer ».

Pour rétablir la masse circulante, l'organisme fait appel à l'eau d'interposition tissulaire. En outre, l'organisme possède des réserves de globules rouges dans la rate, qui par contraction de cet organe sont mis en circulation. Les tissus eux-mêmes cherchent à s'adapter à une vie nouvelle nécessitant une consommation d'oxygène moins importante.

Tous ces facteurs, et bien d'autres encore moins connus mais peut-être aussi importants, vont donc se superposer les uns aux autres durant les heures suivant la saignée.

Si l'organisme peut réagir et rétablir un équilibre entre eux, « l'hémorragie est dite compensée », l'animal survit. Si l'organisme est débordé, la mort peut survenir soit rapidement et brutalement, par déficience cardiaque. soit à plus longue échéance, par suite de phénomènes toxiques secondaires. L'hémorragie « n'est pas compensée ».

Tous ces phénomènes se superposent donc et il est fort difficile dans cet ensemble complexe de connaître ou de déterminer la part réelle qui ressort à chacun d'eux. A fortiori, lorsque l'on introduit dans ce système un élément nouveau, tel qu'une solution d'hémoglobine, est-il encore plus délicat d'apprécier en valeurs absolues l'influence exercée par cette dernière sur les divers processus déclenchés par la saignée.

Aussi, pour pouvoir tirer des résultats que nous avons obtenu des conclusions plus significatives, nous a-t-il paru indispensable de réaliser de nombreux témoins.

C'est pourquoi nous avons effectué, rigoureusement dans les mêmes conditions, des expériences comparatives chez des chiens saignés dans une même proportion, mais qui furent traités ultérieurement dans des conditions différentes.

Dans une première série d'expériences, nous avons cherché le comportement d'animaux saignés auxquels ne furent injecté ultérieurement aucun liquide. Ensuite nous avons cherché le comportement de chiens saignés et

traités immédiatement après, soit par du sérum physiologique, soit par une transfusion sanguine de sang de chien à chien. Enfin, nous avons complété nos expériences en cherchant à déterminer le comportement des animaux traités, soit par des solutions d'hémoglobine à 6,5 p. 100, soit par du sérum physiologique injecté, non point sous forme massive, mais au contraire sous forme de goutte à goutte.

Nous rapporterons dans les divers chapitres suivants les différents résultats obtenus.

CHAPITRE IV

Etude des gaz du sang chez des chiens ayant subi une saignée sans traitement consécutif ultérieur.

Deux chiens dont les observations suivent ont été étudiés à cet effet.

OBSERVATION XLI.

Chien 82. Poids, 22 kilogrammes. — Opération le 28 novembre 1938. On enleva à cet animal 660 cc. de sang en vingt minutes, soit 30 cc. de sang par kilogramme de poids du corps. Après cette saignée, l'animal était très abattu inerte sur la table d'opération. Son pouls était très accéléré; ses extrémités froides. Le chien présentait de la polypnée. Mis à terre il avait l'air égaré; il s'affala sur le carreau et ne put se tenir sur ses jambes. Il était dans un état de prostration très prononcé. On le porta dans sa cage où il refusa de boire. Il toucha à peine à sa soupe, qu'il finit cependant au cours de la journée. Il urina quatre heures après, 150 cc. d'une urine entièrement normale, puis huit heures après il émit encore 580 cc.

Le lendemain le chien était en bon état, quoique il fut toujours assez abattu.

Les jours suivants, il recouvra peu à peu son entrain et sa vitalité. Les volumes urinaires émis furent successivement les premier, deuxième, troisième, quatrième et cinquième jour de 730, 1.580, 1.580, 2.100, 2.250 cc. Les jours suivants la diurèse se maintint à ce niveau. Toutes ces urines furent examinées au point de vue chimique et microscopique, mais en dehors de la présence constante de traces d'albumines, on ne constata jamais d'autre élément anormal.

Les examens de sang furent pratiqués selon le protocole antérieurement établi; les résultats en sont mentionnés plus loin.

OBSERVATION XLII.

Chien 86. Poids 11 kg. 9. — Ce chien fut saigné le 28 novembre 1938 de 360 cc., soit 30 cc. par kilogramme de poids du corps en trente-cinq minutes. L'animal présenta les mêmes symptômes que le chien précédent. Toutefois il sembla avoir mieux supporté cette déperdition sanguine. Son rythme cardiaque fut très accéléré, et il présenta également une polypnée intense. Mis à terre, il s'accroupit, ne marcha pas. Il était très prostré. Porté dans sa cage, il but et mangea un peu. Mais il ne finit pas sa soupe au cours de la journée.

Le lendemain, quoiqu'il fut encore abattu, le chien était en bon état. Les volumes urinaires émis furent successivement les premier, deuxième, troisième, quatrième jour, de 900, 2.120, 1.500 et 1.400 cc. Sauf la présence de traces d'albumine, ce chien ne présenta dans ses urines aucun élément anormal tant au point de vue chimique qu'au point de vue microscopique.

Les résultats des divers dosages effectués chez ce chien ainsi que chez le précédent sont consignés ci-contre.

VARIATIONS DE L'OXYGÈNE DU SANG CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE
SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS
MAIS N'AYANT REÇU ULTÉRIEUREMENT AUCUNE INJECTION COMPEN-
SATRICE.

	Chien 82				Chien 86			
	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100
Normal	8,8	18,5	9,7	53	7,2	19,7	12,5	63
Après saignée ...	16,7	18,0	1,3	9	14,5	14,4	2,8	16
2 heures après ..	10,0	12,4	2,4	20	12,6	18,5	5,9	20
4 heures après ..	8,8	11,5	2,6	23	11,2	13,8	2,5	19
6 heures après ..	7,7	11,0	3,3	30	4,1	9,4	5,2	55
8 heures après ..	5,1	11,2	6,1	54	3,4	9,1	5,7	60
Deuxième jour ..	6,7	13,8	7,1	52	5,5	9,4	3,8	41
Troisième jour ..	5,8	10,5	4,7	45	6,5	11,5	5,0	43
Quatrième jour ..	5,9	10,8	4,9	45	6,0	9,1	3,1	34
Septième jour ..	4,1	13,4	9,2	69	3,2	11,2	8,0	72
2 ^e semaine	4,8	17,6	12,7	72	4,1	11,7	7,5	64
3 ^e semaine	8,2	19,0	10,8	57	6,2	15,9	9,7	61
4 ^e semaine	»	»	»	»	6,4	17,4	10,9	63
5 ^e semaine	»	»	»	»	7,3	18,3	10,9	60

VARIATIONS DU GAZ CARBONIQUE DU PLASMA SANGUIN CHEZ DES CHIENS
AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE
POIDS DU CORPS MAIS N'AYANT REÇU ULTÉRIEUREMENT AUCUNE
INJECTION COMPENSATRICE.

	Chien 82	Chien 86
Normal	40	37
Après saignée	32	37
Deux heures après	32	38
Quatre heures après ...	36	38
Six heures après	35	34
Huit heures après	30	30
Deuxième jour	34	28
Troisième jour	34	30
Quatrième jour	36	32
Septième jour	34	34
Deuxième semaine	34	30
Troisième semaine	36	33
Quatrième semaine		35
Cinquième semaine		34

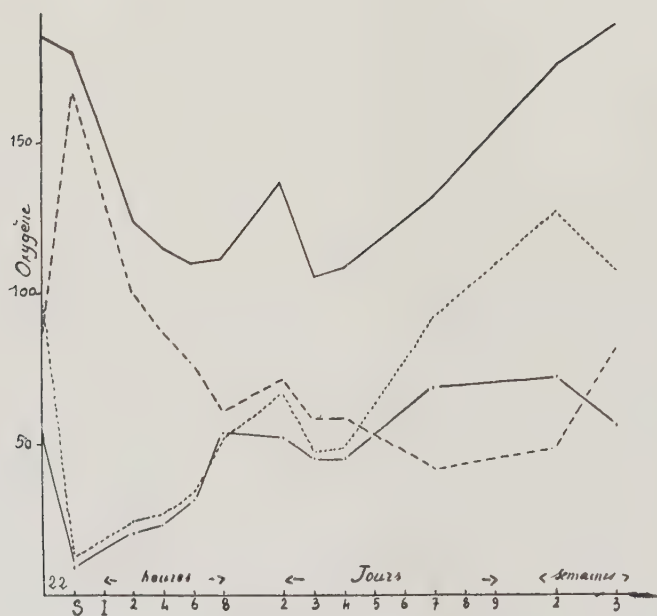


FIG. 20. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 82, non traité après saignée par une injection liquidienne (Observat. XLI).

(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

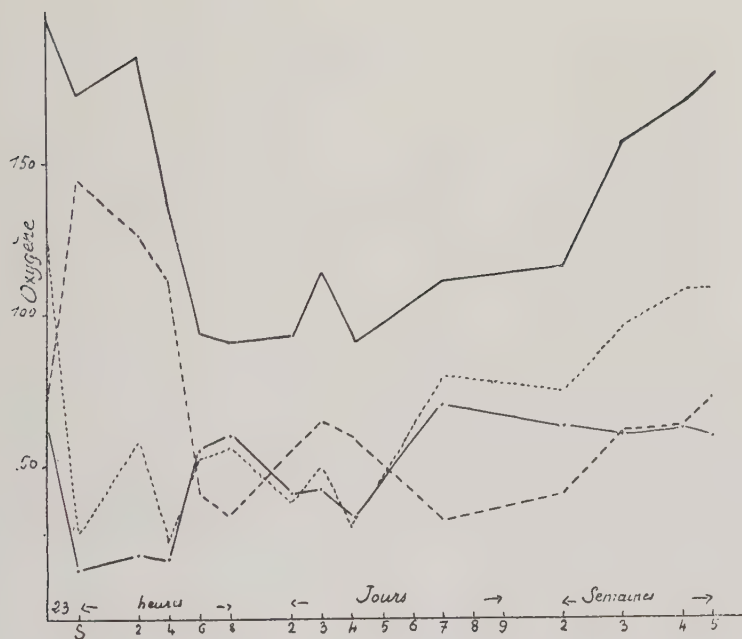


FIG. 21. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 86, non traité après saignée par une injection liquidienne (Observat. XLII).

(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée.

Les tableaux et les courbes ci-contre montrent les faits suivants :

a) *Capacité totale en oxygène ou hémoglobine totale.* — Cette valeur décroit considérablement, non seulement immédiatement après la saignée, mais encore au cours des heures suivantes. Cette chute fut de 55 p. 100 pour le chien 86 (fig. 21), et de 40 p. 100 pour le chien 82 (fig. 20), puis vers le deuxième ou le troisième jour, cette valeur, après une faible remontée, décroit encore légèrement, atteignant le niveau qu'elle avait à la huitième heure.

A partir du quatrième ou cinquième jour, la capacité totale en oxygène remonta plus ou moins rapidement à sa valeur initiale.

b) *Oxygène absorbé.* — Immédiatement après la saignée se produisit une augmentation considérable de cette valeur qui diminua ensuite peu à peu durant les heures suivantes pour atteindre à la huitième heure un taux nettement inférieur à sa valeur initiale. Ce fait peut, semble-t-il, s'expliquer par une réduction de la consommation d'oxygène tissulaire, ou un retour à la normale du volume sanguin.

Les jours suivants, l'hémoglobine totale, qui restait toujours à un taux au-dessous de la normale, présenta quelques fluctuations plus ou moins accusées, et ce n'est que dans les semaines suivantes qu'elle reprit sa valeur initiale.

c) *Oxygène du sang.* — Dès la fin de la saignée, l'oxygène du sang baissa considérablement. Il passa de 9,7 à 1,2 pour le chien 82 (fig. 20), et de 12,5 à 2,8 pour le chien 86 (fig. 21).

Durant les heures suivantes, il remonta légèrement, mais ne présenta pas cet angle si prononcé qui se manifesta chez les chiens hémoglobinés. Il resta ainsi constamment nettement au-dessous de la normale et, montrant quelques fluctuations les jours suivants, ne récupéra sa valeur initiale qu'après quelques semaines.

d) *Saturation oxyhémoglobinée.* — Cette valeur décrut aussi considérablement immédiatement après la saignée, soit de 53 p. 100 à 9 p. 100 pour le chien 82 (fig. 20), et de 63 à 16 p. 100 pour le chien 86 (fig. 21).

Ensuite, cette valeur s'étala, resta traînante durant les heures suivantes pour remonter brusquement à sa valeur initiale au bout de la huitième heure. Nous sommes donc loin ici de la réascension brusque constatée pour ce facteur chez les chiens hémoglobinés.

Puis, durant les jours suivants, la saturation oxyhémoglobinée présenta quelques fluctuations, atteignit pour le huitième jour ou la deuxième semaine une valeur légèrement supérieure à son niveau initial et ultérieurement, tendit à se rapprocher peu à peu de ce niveau.

En résumé, on constate les faits essentiels suivants, comparativement avec les chiens hémoglobinés : un abaissement plus important du taux de l'hémoglobine sanguine, une pauvreté beaucoup plus importante du sang en oxygène combiné, et surtout une allure considérablement plus traînante de la ligne représentant le rétablissement de la saturation oxyhémoglobinée.

CHAPITRE V

Etude des gaz du sang chez des chiens ayant subi une saignée puis une injection intraveineuse de sérum physiologique.

Nous rappelons ici que ces chiens furent saignés d'une quantité de sang correspondant à 30 cc. de sang par kilogramme de poids du corps et qu'ils reçurent ensuite une injection intraveineuse de sérum physiologique correspondant à la moitié du volume sanguin enlevé. Deux chiens dont les observations suivent furent ainsi traités.

OBSERVATION XLIII

Chien 80. Poids, 21 kilogrammes. — Le 9 octobre 1938, on saigna cet animal dans les conditions habituelles de 630 cc. en trente-cinq minutes. On lui injecta alors en quinze minutes 315 cc. de sérum physiologique. On constata une augmentation du rythme respiratoire, mais, contrairement à ce qui se passait dans le cas des injections de solution d'hémoglobine, les mouvements respiratoires ne s'amplifièrent pas, la respiration resta superficielle. L'animal mis à terre tituba un peu, sembla comme égaré et se coucha. Mis dans sa cage, il mangea un peu de sa soupe, mais il resta accroupi toute la journée. Il émit huit heures après l'injection, 750 cc. d'urines claires et limpides, ne contenant aucun élément anormal, si ce n'est la présence de traces d'albumine.

Le lendemain l'animal était en bon état, quoique encore un peu abattu, il marchait toutefois normalement. Il mangea entièrement sa pâtée et urina en deux fois 1.470 cc. d'urines chimiquement et microscopiquement normales.

A partir de ce jour, le chien fut absolument normal. Sa diurèse quotidienne fut de l'ordre de 1.800 cc.

Les analyses de sang furent pratiquées selon le protocole mentionné plus haut.

OBSERVATION XLIV

Chien 81. Poids, 19 kilogrammes. — Le 14 novembre 1938, on saigna l'animal dans les conditions habituelles de 570 cc. en treize minutes. On lui injecta ensuite en dix minutes 285 cc. de sérum physiologique. Les troubles constatés chez le chien précédent furent ici encore plus prononcés. L'animal fut fortement abattu. Mis à terre, c'est à peine s'il put marcher. Mis dans sa cage, il refusa sa pâtée quotidienne, mais but au cours de la journée le bouillon de viande. Il déféqua des selles normales et moulées, mais peu abondantes très peu de temps après l'injection. Il urina neuf heures après, 740 cc. d'urines normales.

Le lendemain, il ne mangea pas entièrement sa ration, mais parut en meilleur état. Il urina durant la journée 1.100 cc. Les jours suivants, il était redevenu apparemment normal. Il urina les troisième, quatrième, cinquième et sixième jours, respectivement 2.000, 1.600, 2.200 et 1.620 cc. Toutes ces urines furent normales.

Les résultats des analyses de sang effectuées chez ces deux chiens sont mentionnés dans les tableaux et les courbes ci-contre.

VARIATIONS DE L'OXYGÈNE DU SANG CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET, AUSSITÔT APRÈS, UNE INJECTION INTRAVEINEUSE DE SÉRUM PHYSIOLOGIQUE EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU VOLUME DE SANG PRÉLEVÉ.

	Chien 80				Chien 81			
	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100
Normal	4,0	19,9	15,8	79	3,2	16,0	12,7	78
Après saignée . . .	16,9	18,8	1,9	10	19,0	17,4	5,7	32
Après injection . .	9,6	17,1	7,5	43	8,9	13,8	4,9	36
2 heures après . .	5,1	12,7	7,6	59	7,2	14,5	7,2	51
4 heures après . .	3,2	12,7	9,5	75	4,6	11,5	6,8	59
6 heures après . .	2,8	11,7	8,9	72	3,9	11,2	7,3	64
8 heures après . .	1,8	12,9	11,0	85	3,1	11,4	8,3	73
Deuxième jour . .	4,4	12,2	7,7	63	3,0	11,4	8,3	73
Troisième jour . .	6,5	10,9	10,3	61	»	»	»	»
Quatrième jour . .	6,1	10,3	4,2	41	3,6	11,0	7,4	67
Sixième jour . . .	7,0	12,7	5,6	44	»	»	»	»
Neuvième jour . .	5,3	13,2	7,7	59	4,4	13,6	9,4	69
2 ^e semaine	4,8	18,8	13,9	73	4,1	14,5	10,3	71
3 ^e semaine	3,2	17,1	13,9	81	4,1	15,5	11,3	73
4 ^e semaine	3,7	19,7	16,0	83	3,9	16,2	12,2	76
5 ^e semaine	4,1	19,9	15,8	79	3,6	17,1	13,4	78
6 ^e semaine	3,9	19,0	15,1	79	»	»	»	»

VARIATIONS DU GAZ CARBONIQUE DU PLASMA SANGUIN CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET AUSSITÔT APRÈS UNE INJECTION INTRAVEINEUSE DE SÉRUM PHYSIOLOGIQUE EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG PRÉLEVÉ.

	Chien 80	Chien 81
Normal	44	32
Après saignée	32	55
Après injection	34	42
Deux heures après	56	38
Quatre heures après	52	36
Six heures après	62	36
Huit heures après	70	36

	Chien 80	Chien 81
Deuxième jour	54	34
Troisième jour	42	»
Quatrième jour	44	39
Sixième jour	45	40
Neuvième jour	46	34
Deuxième semaine	32	30
Troisième semaine	32	28
Quatrième semaine	36	30
Cinquième semaine ...	38	31
Sixième semaine	41	»

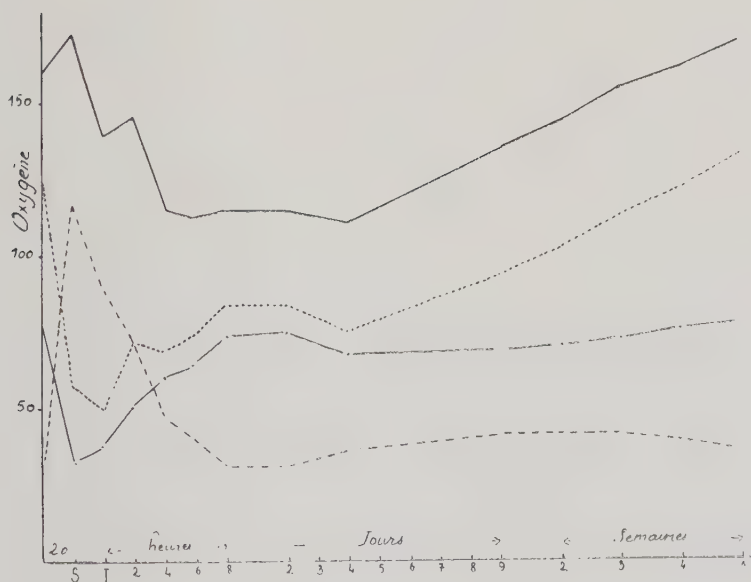


FIG. 22. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 81, traité après saignée par une injection de sérum physiologique (Obs. XLIV).
 (Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)
 S : après saignée. — I : après l'injection.

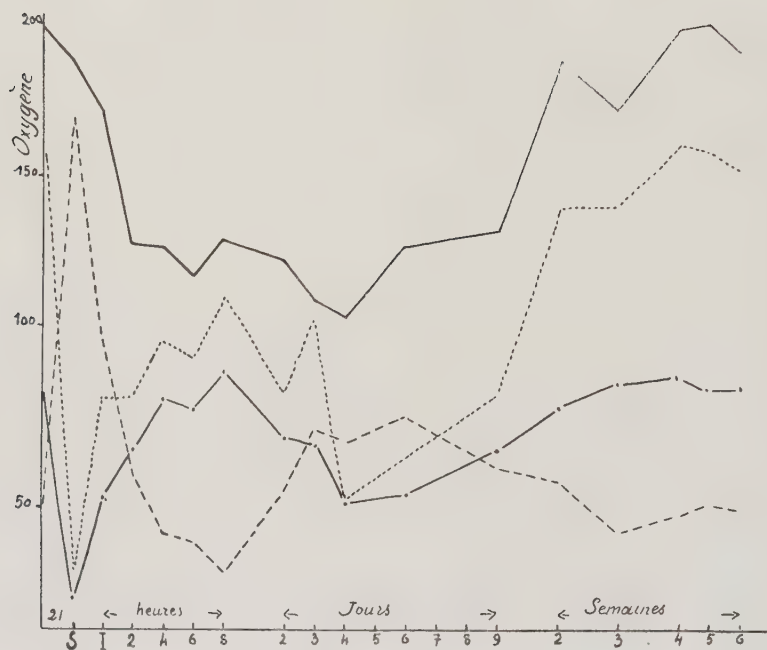


FIG. 23. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 80, traité après saignée par une injection de sérum physiologique (Obs. XLIII).

(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

De l'ensemble de ces chiffres, il résulte les faits suivants.

a) *Capacité totale en oxygène* — Cette valeur baissa plus ou moins après la saignée. Immédiatement après l'injection de sérum physiologique, elle baissa nettement par suite de la dilution brutale du sang.

Au total, l'abaissement de la capacité totale en oxygène fut de 42 p. 100 pour le chien 80 (fig. 23), et seulement de 35 p. 100 pour le chien 81 (fig. 22), chien d'ailleurs particulièrement vigoureux. Puis, dans les premiers jours suivants, cette valeur s'étala au même niveau chez le chien 81 (fig. 22), décru encore légèrement chez le chien 80 (fig. 23). A partir du quatrième jour, pour les deux chiens, la capacité en oxygène remonta d'une façon plus ou moins rapide pour atteindre finalement sa valeur initiale vers la quatrième ou la cinquième semaine.

b) *Oxygène absorbé*. — Après la saignée, on constata comme toujours une augmentation très rapide de cette valeur. Après l'injection, elle décru progressivement, pour atteindre sa valeur initiale au bout de la troisième heure chez le chien 80 (fig. 23), au bout seulement de la huitième heure chez le chien 81 (fig. 22). Dans les jours suivants, l'oxygène absorbé s'étala à son niveau initial pour le chien 81. Pour le chien 80, au contraire, elle forma un léger dôme au-dessus de son taux initial et ne revint à son niveau normal qu'aux environs de la deuxième semaine.

c) *Oxygène du sang*. — Cette valeur varia comme toujours en sens inverse de la précédente. Après s'être écroulée de 15,8 à 1,8 pour le chien 80 (fig. 23), elle remonta dans les heures suivantes à peu près à la moitié de sa valeur initiale, puis, après quelques oscillations, elle décru encore considérablement pour le quatrième jour et remonta ensuite à sa valeur initiale. Chez le chien 81 (fig. 22), au contraire, la variation fut beaucoup plus régu-

lière. Après l'injection, elle crut lentement et régulièrement pour revenir au bout de cinq semaines à sa valeur de départ.

d) *Saturation oxyhémoglobinée.* — La remontée de la ligne figurant cette valeur sembla être moins rapide que dans le cas des chiens hémoglobinés. Le fait est marqué surtout chez le chien 81. Chez cet animal, la saturation oxyhémoglobinée ne récupère son taux initial que sensiblement au bout de la huitième heure. Chez le chien 80 (fig. 23), au contraire, l'ascension fut plus rapide que dans le cas précédent, mais elle se fit avec une intensité irrégulière, ce qui ne se vit que rarement chez les chiens hémoglobinés. Elle n'atteignit d'ailleurs sa valeur initiale qu'aux environs de la septième heure.

Dans les jours suivants, la courbe de la saturation s'étala et se stabilisa au niveau primitif chez le chien 81 (fig. 22), tandis que chez le chien 80 (fig. 23), elle décrut, avec un minimum pour le quatrième jour, et récupéra ensuite lentement et régulièrement sa valeur initiale.

En résumé, et dans l'ensemble, on peut dire que nous avons obtenu ici des résultats intermédiaires entre ceux que nous avons eus chez les chiens hémoglobinés, et chez ceux que nous avons relevés chez les animaux non traités après la saignée.

L'action bienfaisante du sérum physiologique après saignée est connue et utilisée en thérapeutique humaine depuis les travaux de Jolyet et Lafont, de Kronecker et Sander, de Hayem. Les sérums salés isotoniques, en injections précoces et répétées, ont donné et donnent encore de bons résultats lorsque l'hémorragie n'est pas très considérable. L'amélioration est immédiate. Toutefois, dans les grosses hémorragies, ces auteurs et bien d'autres ont constaté que de telles injections, à elles seules, sont incapables d'assurer une survie définitive.

Divers auteurs ont cherché à améliorer les effets du sérum physiologique, en modifiant sa composition minérale. Le liquide de Ringer Locke, la solution salée glucosée de Ch. Richet, le sérum salé citraté de Normet donnent, d'après Delaunay, des résultats un peu supérieurs à celui du simple sérum physiologique; mais ce dernier auteur, avec Destelle, en 1917, à la même époque d'ailleurs que Bayliss, a montré l'amélioration considérable obtenue quand on ajoute à de telles préparations minérales une solution gommée, qui « a l'avantage de relever la pression artérielle » et aussi, sûrement, la pression colloïdo-osmotique. Et nous voyons déjà ici quel peut être l'intérêt de nos solutions d'hémoglobine qui, non seulement, possèdent ces propriétés, mais sont encore capables de véhiculer physiologiquement l'oxygène.

CHAPITRE VI

Etude des gaz du sang chez des chiens ayant subi une saignée puis une transfusion de sang de chien.

De nombreux travaux ont montré que chez les animaux comme chez l'homme, il y avait entre les sangs d'animaux de la même espèce des phénomènes d'isoagglutination. Ehrlich et Margeuroth l'ont démontré chez la chèvre; Ascali et Schulz chez le lapin; Hada et Rosenthal sur le poulet; Todd chez le bœuf, et enfin, chez le chien, Dungern et Hirszfeld, Dujarric de La Rivière et Kossowitch. Ces derniers auteurs ont montré que, chez les chiens comme chez l'homme, les hématies pouvaient contenir deux agglutinogènes, le sérum et les liquides organiques, deux agglutinines, ce qui donne en conséquence, pour le chien comme pour l'homme, quatre groupes sanguins.

Pour nous, le problème était d'ailleurs plus complexe que dans le cas d'une transfusion en clinique humaine. Dans ce cas, en effet, on tolère que les hématies du receveur soient agglutinées par les hématies du donneur; mais dans le cas de nos expériences, ce processus aurait pu entraîner une hémolyse de globules rouges et, par suite, libérer de l'hémoglobine, dans le plasma de l'animal. Il fallait donc que nous procédions à une détermination très stricte de la compatibilité réciproque du sang du donneur et du sang du receveur.

Nous avons pratiqué chez plusieurs chiens la réaction d'isoagglutination.

Deux méthodes macroscopiques d'ailleurs peuvent être

utilisées à cet effet : celle de Beth Vincent, qui se fait sur lame, et celle de Dungern Hirzfeld, qui s'effectue en tube à l'étuve. Mais ces deux méthodes nécessitent l'emploi de sérum de groupe A et B de chien. Comme nous n'en avons pas, nous avons eu recours à la méthode suivante, qui fut obligeamment effectuée par M. le Docteur Moureau.

A cet effet, nous avons prélevé chez quatre chiens normaux 20 cc. de sang. Immédiatement après la saignée, 2 cc. de ce sang furent mélangés à 1 cc. d'une solution de citrate de soude à 10 p. 100. Le tout fut mis en décantation, de manière à obtenir les globules rouges qui furent ensuite lavés comme à l'habitude. Le reste du prélèvement fut centrifugé pour obtenir le sérum.

Nous avons ensuite fait réagir le sérum de chaque chien sur ses propres hématies et sur les hématies des autres chiens, à raison d'une goutte d'hématies réfrinées pour 20 à 30 gouttes de sérum. Ceci fut effectué sur des lames de verre et sur des cartons. La réaction demande, pour se faire un temps plus long qu'avec le sang humain, de l'ordre d'une demi-heure. Chaque détermination a été faite à plusieurs reprises afin d'éviter les pseudo-agglutinations rendues possibles par la coagulabilité extrême du sang de chien.

Les résultats de cette épreuve sont indiqués dans le tableau ci-joint.

		SÉRUM DES CHIENS			
GLOBULES DES CHIENS		82	83	84	85
	82	—	—	+	—
	83	+	—	+	—
	84	+	—	—	—
	85	+	—	+	—

Le nombre trop restreint de nos chiens ne nous a pas permis de classer leurs sangs avec certitude dans les groupes classiques, mais nous avons pu établir les compatibilités réciproques, permettant la transfusion. Nous savons que, dans la transfusion, seule est à redouter l'agglutination des hématies du donneur par le sérum du receveur; or, d'après ce tableau, nous voyons que les hématies du chien 82 étaient agglutinées par le sérum du chien 84; et que le sérum de ce dernier agglutinait toutes les hématies sauf les siennes. Les hématies du chien 84 étaient agglutinées par le sérum du chien 82, et le sérum de ce chien agglutinait toutes les hématies, sauf les siennes. Les chiens 82 et 84 ne pouvaient donc recevoir que leur propre sang et étaient inutilisables pour nos expériences. Par contre, si les hématies des chiens 83 et 85 étaient agglutinées par les sérums 82 et 84, le sérum de ces deux chiens n'agglutinait les hématies d'aucun sang.

Il nous était donc possible de transfuser au chien 83 le sang du chien 85 et au chien 85 le sang du chien 83, sans qu'on ait même à redouter l'agglutination des hématies du receveur. Nous étions dans les conditions optima.

II. — TECHNIQUE OPÉRATOIRE UTILISÉE

Les deux chiens furent saignés l'un après l'autre d'un volume sanguin correspondant à 30 cc. de sang par kilogramme de poids du corps. Le sang fut prélevé d'une façon aseptique par ponction de la veine fémorale dénudée, au moyen d'une seringue de 100 cc. contenant 10 cc. de citrate de Na. Ce sang était entreposé dans des flacons stériles. Quand les deux animaux furent saignés, on injecta à chacun d'eux dans la proportion de 15 cc. par kilogramme de poids du corps le sang de l'autre animal, au moyen d'une seringue de 100 cc. Les réactions des animaux sont consignées au paragraphe suivant.

III. — OBSERVATIONS

Comme nous l'avons antérieurement indiqué, nous avons opéré chez deux chiens.

OBSERVATION XLV

Chien 83. Poids, 13 kilogrammes. — Opération le 23 novembre 1938. Le chien fut saigné dans les conditions habituelles de 30 cc. de sang par kilogramme. Après la saignée, il fut laissé dans cet état durant cinquante minutes, temps durant lequel on pratiqua la saignée chez le chien 85. Au bout de ce temps, on injecta au chien 83, 200 cc. du sang du chien 85, compte tenu du volume de la solution de citrate ajoutée. L'injection fut poussée très lentement. Dès que le volume injecté eut atteint 10 cc., la respiration se ralentit et se régularisa (18 à la minute). On injecta ainsi 100 cc. en dix minutes. La respiration à ce moment s'accéléra (25 à la minute), le pouls était à 108. On n'observa à aucun moment de phénomène de choc. Jusqu'à la fin de l'injection, qui a duré en tout trente minutes, la respiration resta au rythme de 25 à la minute, mais le pouls resta toujours très élevé (125).

Quand l'injection fut terminée, la veine fémorale saigna abondamment et l'hémorragie ayant été difficile à arrêter, on fit une injection supplémentaire de 20 cc. de sang. Mis à terre, le chien était en excellent état, mais il refusa de boire et de manger. Il toucha à peine à sa soupe au cours de la journée. Il n'urina pas ce jour ni la nuit suivante. Le lendemain, il émit à 14 heures, 1.720 cc. d'une urine incolore contenant 0,10 d'albumine, ainsi que quelques hématies. A 17 heures, il émit encore 350 cc.; ce qui porta le volume total urinaire de la journée à 2.070 cc. Les analyses ne révélèrent rien d'anormal.

Le surlendemain, il émit en tout, en deux fois, 700 cc. Le quatrième jour, 1.400 cc. Les jours suivants, la diurèse se rétablit au niveau de cette valeur. Toutes les urines examinées ne contenaient aucun élément anormal, en dehors de la présence de traces d'albumine.

Les prises de sang furent effectuées selon le protocole antérieurement établi.

OBSERVATION XLVI

Chien 85. Poids, 23 kilogrammes. — L'opération fut effectuée le même jour (23 novembre 1938). Après la saignée, le chien fut abandonné trente minutes. Au bout de ce temps, on lui injecta 350 cc. de sang du chien 83, compte tenu du volume de la solution citratée. Dès les premiers cc., la respiration s'amplifia considérablement. Elle était très régulière et moins rapide que chez les animaux traités par des solutions d'hémoglobine (respiration 29, pouls 105). 100 cc. furent injectés en cinq minutes. Au bout de ce temps, le nombre de respirations à la minute décrut; le rythme cardiaque devint incomptable; le chien fut très abattu; il déféqua, puis survint une polypnée intense. De toute évidence, l'animal présentait un choc. On suspendit alors l'injection. La respiration monta à 234 par minute. Au bout de six minutes, on reprit l'injection très lentement. La respiration s'abassa à 124, le pouls était encore incomptable. La durée totale de l'injection fut de trente minutes. En fin de transfusion, le nombre de respirations n'était plus que de 72 à la minute; le pouls était à 130. Le chien était très abattu, hagard. Mis dans sa cage, il ne mangea ni ne but. Il se rétablit peu à peu, au cours de la journée, durant laquelle il mangea toute sa ration. Le soir, il était en excellent état. Il n'urina pas durant toute la journée ni durant la nuit suivante.

Le lendemain, il urina en deux fois, 1.600 cc., au total, d'urines contenant 0,25 d'albumine p. 100, sans autres éléments anormaux. Le troisième jour, il émit 1.100 cc. contenant un léger excès d'urobiline. Le quatrième jour, il urina 1.580 cc. d'urines parfaitement normales.

A partir de ce jour, la diurèse se fixa à une valeur voisine de ce taux. L'animal resta toujours en excellent état et se comporta en tous points comme un chien normal.

Les résultats des examens de sang effectués chez ces deux chiens sont mentionnés aux tableaux et dans les graphiques ci-contre.

VARIATIONS DE L'OXYGÈNE DU SANG CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET, AUSSITÔT APRÈS, UNE INJECTION INTRAVEINEUSE DE SANG DE CHIEN EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG PRÉLEVÉ.

	Chien 83				Chien 85			
	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100
Normal	7,6	15,9	8,3	52	5,9	22,8	16,8	74
Après saignée . . .	14,2	15,2	1,0	6	21,0	22,5	1,5	7
Après injection . .	3,9	15,7	11,8	75	12,6	20,4	7,8	38
2 heures après . .	9,8	15,0	5,2	35	7,2	18,5	11,3	61
4 heures après . .	3,2	11,1	8,0	71	7,2	16,9	9,7	57
6 heures après . .	3,2	10,3	7,1	68	12,6	18,3	6,7	33
8 heures après . .	3,4	10,3	6,8	67	9,3	16,9	7,5	45
Deuxième jour . .	4,6	16,4	11,8	72	6,7	13,6	7,1	52
Troisième jour . .	6,0	9,8	3,8	40	4,1	15,7	11,5	72
Cinquième jour . .	5,3	12,2	6,8	56	4,8	14,1	9,2	65
Septième jour . .	6,6	13,6	7,0	52	4,6	15,0	10,4	69
2 ^e semaine	5,3	14,1	8,7	62	4,8	16,9	14,0	82
3 ^e semaine	7,4	18,8	11,3	60	5,3	17,6	12,2	69
4 ^e semaine	7,9	18,3	10,4	57	5,8	20,6	14,8	71
5 ^e semaine	»	»	»	»	6,0	21,7	15,6	72

VARIATIONS DU GAZ CARBONIQUE DU PLASMA SANGUIN CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET AUSSITÔT APRÈS UNE INJECTION INTRAVEINEUSE DE SANG DE CHIEN EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG ENLEVÉ.

	Chien 83	Chien 85
Normal	40	44
Après saignée	48	42
Après injection	34	32
Deux heures après	32	38
Quatre heures après	36	44
Six heures après	34	44
Huit heures après	32	40

	Chien 83	Chien 85
Deuxième jour	32	36
Troisième jour	32	40
Quatrième jour	32	36
Septième jour	34	40
Deuxième semaine	36	38
Troisième semaine	36	39
Quatrième semaine	38	41
Cinquième semaine ...	»	40

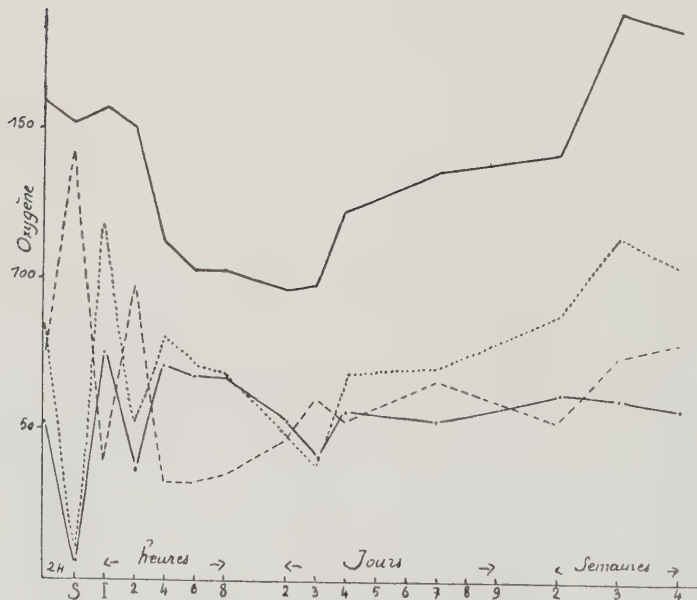


FIG. 24. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 83, traité après saignée par une transfusion sanguine de sang de chien (Observation XLV).

(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

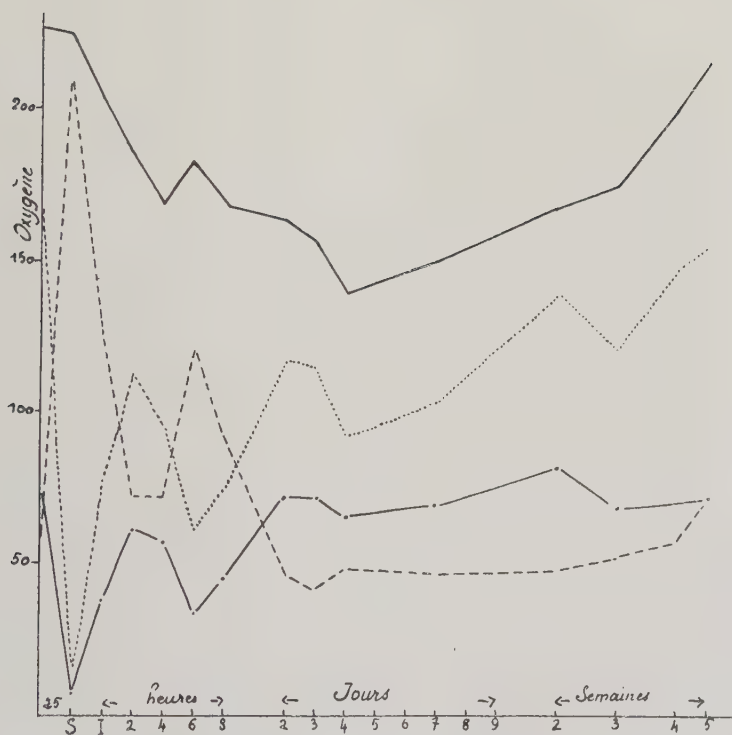


FIG. 25. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 85, traité après saignée par une transfusion sanguine de sang de chien (Observation XLVI).

(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

On constate par l'examen des tableaux et des graphiques ci-joints les faits essentiels suivants :

a) *Capacité totale en oxygène.* — Après la transfusion sanguine, cette valeur décroit plus ou moins rapidement. Au cours du jour même de l'injection, elle atteint sa valeur minima, chez le chien 83 (fig. 24) la sixième heure avec un abaissement de 35 p. 100, et chez le chien 85 (fig. 25), à la quatrième heure, avec un abaissement de 25 p. 100.

Les jours suivants, elle décroit encore légèrement pour atteindre son taux minimum le deuxième jour pour le chien 83, le quatrième jour pour le chien 85. A partir de ce moment, la capacité totale en oxygène crut plus ou moins rapidement, jusqu'à ce qu'elle ait récupéré sa valeur initiale, c'est-à-dire pour la troisième semaine chez le chien 83, la cinquième semaine chez le chien 85.

b) *Oxygène absorbé.* — Cette valeur qui s'est élevée considérablement après la saignée, retombe ensuite à son taux initial (chien 85, fig. 25), ou même beaucoup plus bas (chien 83, fig. 24). Elle subit des fluctuations très importantes au cours du premier jour, et sa courbe montre notamment un clocher très net dans les deux cas. Elle revint dans les jours et les semaines suivantes lentement à sa valeur initiale, avec quelques oscillations de peu d'amplitude.

c) *Oxygène du sang.* — Il présenta, avec une intensité plus ou moins marquée du fait de la diminution de la capacité totale en oxygène, des fluctuations inverses de l'oxygène absorbé. On nota immédiatement après la transfusion sanguine, une très forte augmentation de cette valeur qui décroit ensuite au cours des heures suivantes en formant un clocher nettement marqué. Durant les jours suivants, l'oxygène du sang resta toujours au-dessous de sa valeur initiale, valeur qu'il récupéra lentement au fur

et à mesure que la capacité totale remonta elle aussi à son taux initial.

d) *Saturation oxyhémoglobinée.* — Dans le cas du chien 83, ce rapport qui était tombé très bas après la saignée, remonta considérablement et dépassa de 22 p. 100 son taux initial. Chez le chien 85 (fig. 25), au contraire, immédiatement après la transfusion, la vitesse de remontée fut beaucoup plus faible; mais, n'oublions pas que cet animal a été très choqué au cours de l'injection.

Durant les heures suivantes, la courbe de la saturation oxyhémoglobinée décrivit un clocher, pointe en bas, rappelant un peu l'allure de la courbe obtenue chez les chiens traités par de l'hémoglobine à 14 p. 100. Les jours suivants, ce rapport se stabilisa ou décru légèrement et récupéra finalement son taux initial.

NOTA. — Pour chaque prélèvement sanguin effectué chez ces chiens, nous n'avons jamais constaté la présence de la moindre trace d'hémoglobine en solution dans le plasma.

En résumé, chez ces chiens saignés, puis traités par transfusion sanguine, on constate que les résultats obtenus sont beaucoup plus voisins de ceux que nous ont donnés les chiens hémoglobinés que de ceux qui furent observés après injection de sérum physiologique ou sans aucune injection compensatrice ultérieure.

La capacité totale en oxygène tomba à une valeur beaucoup moins basse au cours de la première journée. La vitesse de restauration de la courbe représentative de la saturation oxyhémoglobinée, immédiatement après la transfusion, fut plus grande que chez les chiens hémoglobinés, et surtout considérablement plus intense que chez les autres chiens témoins.

CHAPITRE VII

Etude des gaz du sang chez des chiens ayant subi une saignée puis traités ultérieurement par une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 6,5 p. 100 ou par une solution salée isotonique, administrée par voie veineuse en goutte à goutte.

Nous avons déjà rapporté au chapitre VI de la troisième partie, les conditions dans lesquelles nous avons opéré pour réaliser ces injections lentes par goutte à goutte. Nous rappelons que les animaux fixés sur une gouttière de Farabœuf étaient anesthésiés au chloralose et qu'ils furent saignés de 30 cc. de sang par kilogramme de poids du corps.

Le dispositif très simple était constitué d'un récipient situé à 80 cm. au-dessus de la veine fémorale du chien, contenant le liquide à injecter, d'un ajustage en caoutchouc muni d'un dispositif en goutte à goutte sur le trajet duquel était intercepté un serpentin de verre plongé dans un thermostat maintenu à une température de 45°, et enfin d'une aiguille plantée dans la veine fémorale du chien.

La vitesse de circulation du liquide dans les conduits et la déperdition calorifique étaient telles que la solution d'hémoglobine arrivait dans la veine à une température de 32°, malgré que le thermostat fût à 45°. Nous ne pouvions élever davantage cette dernière température sans craindre d'altérer nos solutions d'hémoglobine.

Le volume de la solution injectée fut le même que dans le cas des injections rapides, c'est-à-dire 15 cc. par kilogramme de poids du corps de l'animal. Le réglage de l'appareil était fait de telle sorte qu'en principe cette

quantité devait être injectée en neuf heures. Les prises de sang furent effectuées à l'état normal, quelques minutes après l'injection du chloralose, immédiatement après la saignée, puis toutes les deux heures. On effectua, grâce à ces prélèvements de sang, les dosages de l'hémoglobine et des gaz sanguins.

Nous avons réalisé des expériences similaires chez des animaux traités dans les mêmes conditions avec du sérum physiologique, à titre comparatif.

Deux chiens furent soumis aux solutions d'hémoglobine à 6,5 p. 100, les chiens 88 et 91; deux au sérum physiologique, les chiens 89 et 90.

Les observations de ces chiens ayant été déjà rapportées, on trouvera seulement ci-contre les résultats obtenus dans l'étude des gaz du sang.

VARIATIONS DE L'OXYGÈNE DU SANG CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET, AUSSITÔT APRÈS, UNE INJECTION INTRAVEINEUSE EN GOUTTE A GOUTTE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL A 6,5 P. 100, EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG ENLEVÉ.

	Chien 88				Chien 91			
	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100
Normal	11,9	20,4	8,5	41	5,1	20,4	15,3	75
Apr. chloralose . .	8,1	15,7	7,6	48	4,3	19,7	15,4	78
Après saignée . . .	17,4	18,0	6,4	4	13,1	16,2	3,1	19
2 heures après . .	12,1	17,1	6,0	29	11,4	17,1	5,7	33
4 heures après . .	15,9	18,3	2,4	13	14,9	17,6	2,6	15
6 heures après . .	15,2	17,8	2,6	15	12,6	16,9	4,3	25
8 heures après . .	12,1	14,1	1,9	14				
9 heures après . .	11,2	14,3	3,1	22				
Deuxième jour . .	8,8	15,0	6,1	41				
Troisième jour . .	7,2	14,5	7,3	50				
Quatrième jour . .	4,8	12,4	7,5	61				
Septième jour . . .	4,6	13,8	9,2	66				
2 ^e semaine	7,4	14,8	7,3	49				
3 ^e semaine	7,9	15,2	7,3	48				
4 ^e semaine	9,7	17,6	7,9	45				

VARIATIONS DE L'OXYGÈNE DU SANG CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET, AUSSITÔT APRÈS, UNE INJECTION INTRAVEINEUSE EN GOUTTE A GOUTTE, D'UNE SOLUTION DE SÉRUM PHYSIOLOGIQUE EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG ENLEVÉ.

	Chien 89				Chien 90			
	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100	Oxygène absorbé	Capacité totale	Oxygène du sang	Saturation p. 100
Normal	7,2	15,9	8,7	53	5,5	17,4	11,8	68
Apr. choralose ..	6,0	14,5	8,5	58	3,9	14,8	10,8	73
Après saignée ...	12,6	14,3	1,7	11	14,7	15,2	5,3	3
2 heures après ..	12,4	13,1	7,7	5	13,8	16,2	2,4	15
4 heures après ..	»	»	»	»	14,0	14,1	0,1	1
6 heures après ..	»	»	»	»	13,1	13,2	0,1	1

VARIATIONS DU GAZ CARBONIQUE DU PLASMA SANGUIN CHEZ DES CHIENS AYANT SUBI UNE SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET AUSSITÔT APRÈS UNE INJECTION INTRAVEINEUSE EN GOUTTE A GOUTTE, SOIT D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE A 6,5 P. 100, SOIT DE SÉRUM PHYSIOLOGIQUE, EN QUANTITÉ ÉGALE A LA MOITIÉ DU SANG ENLEVÉ.

	HbO 6,5 p. 100		Sérum physiol.	
	Chien 88	Chien 91	Chien 89	Chien 90
Normal	32	32	51	38
Apr. choralose ..	38	28	34	29
Après saignée ...	28	26	19	20
2 heures après ..	24	22	»	19
4 heures après ..	23	21	»	18
6 heures après ..	25	21	»	14
8 heures après ..	20	»		
9 heures après ..	26	»		
Deuxième jour ..	28	»		
Troisième jour .	28	»		
Quatrième jour ..	28	»		
Septième jour ..	28	»		
2 ^e semaine	25	»		
3 ^e semaine	24	»		
4 ^e semaine	29	»		

Il semble découler de ces résultats les faits suivants :

Les deux chiens traités par le sérum physiologique sont morts, l'un au bout de deux heures (chien 89), et l'autre au bout de six heures (chien 90). Les examens de sang montrent qu'ils sont morts en état d'anoxémie complète.

La quantité d'oxygène du sang à la deuxième heure était en effet excessivement faible. La saturation oxyhémoglobinée pour le chien 89 à cet instant, c'est-à-dire très peu de temps avant sa mort, fut trouvée de 5 p. 100. Pour le chien 90, elle était au bout de la deuxième heure de 15 p. 100, mais elle tomba dans les heures suivantes à 1 p. 100 et même pratiquement à zéro.

Au contraire, dans le cas des chiens traités par des solutions d'oxyhémoglobine, la saturation oxyhémoglobinée, qui est très abaissée par la saignée, tendit à remonter au bout de la deuxième heure d'instillation et atteignit même une valeur assez importante. Elle passa de 19 p. 100 à 33 p. 100 pour le chien 91, et de 4 p. 100 à 29 p. 100 chez le chien 88. Au bout de la quatrième heure, on assista à une nouvelle chute, et dans les heures qui suivirent, à une réascension lente mais régulière. Dans le cas du chien 91, mort au bout de la septième heure, la saturation oxyhémoglobinée était égale à ce moment à 25 p. 100. Ce chien n'est donc point mort en état d'anoxémie.

Les examens d'urines effectués chez les quatre chiens montrent que les volumes urinaires horaires furent excessivement faibles, de l'ordre de quelques centimètres cubes. Ils furent d'ailleurs plus faibles pour les chiens hémoglobinés. Dans ces derniers cas, l'hémoglobine apparut dans les urines entre la première et la deuxième heure, à des doses d'ailleurs assez faibles, mais ultérieurement ces concentrations augmentèrent considérablement et atteignirent même 4 p. 100. Minatoya a montré que chez des lapins traités par des injections intraveineuses de globules rouges hétérogènes ou de solutions d'hémoglobine à une dose

telle que le seuil rénal soit sûrement dépassé, l'hémoglobinurie survient dans les deux cas au bout de la quinzième à la vingtième minute. Nous n'avons pas observé d'élimination aussi rapide dans nos expériences. Il est vrai que, dans ce cas, il a fallu un certain temps pour que l'hémoglobinémie atteignit un taux tel que le seuil rénal fût dépassé.

On peut se demander pour quelle raison les deux chiens traités par du sérum physiologique et l'un des chiens traités par l'hémoglobine sont morts en quelques heures. Dans le premier cas, l'état d'anoxémie des animaux a évidemment contribué à cette fin rapide, mais ceci n'existait pas dans le cas du chien traité par l'hémoglobine. En outre, il y a lieu de se demander pourquoi l'anoxémie fut si importante chez les chiens au sérum physiologique, attendu qu'ils n'avaient, somme toute, subi une saignée que de 30 cc. par kilogramme de poids du corps. Nous pensons que le chloralose que nous fûmes obligés d'administrer à dose importante à nos animaux a dû contribuer à précipiter les phénomènes. En tout état, l'étude des gaz du sang montre que dans les conditions où nous sommes placés, l'injection d'hémoglobine a eu sur les processus de l'hématose une influence favorable incontestable, à tel point même que, dans un cas, elle permit la survie de l'animal.

CHAPITRE VIII

Aperçu d'ensemble sur l'activité de l'hémoglobine injectée dans la circulation à des animaux préalablement saignés.

Trois ordres de faits nous paraissent permettre de conclure que l'hémoglobine, administrée par voie veineuse, à des animaux en état d'anémie aiguë par saignée, peut permettre à ceux-ci, dans une certaine mesure, de parer aux troubles apportés par la déperdition du sang.

Il va de soi que nous ne tiendrons pas compte dans cet exposé de l'influence que peut exercer la masse du liquide injectée. Une influence du même ordre peut évidemment être réalisée par le sérum physiologique.

1° L'action bienfaisante d'une solution d'hémoglobine, donnée à dose thérapeutique à des animaux auxquels on a soustrait une importante quantité de sang, nous paraît démontrée par le comportement clinique de ces animaux. Il semble acquis en effet que ces solutions peuvent entraîner la survie de chiens saignés à mort, comme l'ont rétabli Aubertin et Sappey; et on se rappelle qu'Amberson et ses collaborateurs ont réussi à maintenir quelque temps des animaux dont ils avaient remplacé en entier la masse sanguine par du liquide de Ringer Locke hémoglobiné.

Pour notre part, nous avons pu constater que l'injection d'une dose suffisante d'hémoglobine dans les veines de chiens très abattus par suite d'une grande perte de sang, leur redonne très rapidement une vigueur nouvelle, rend à la respiration son ampleur et son rythme habituels, et manifeste son action bienfaisante par une foule d'autres

symptômes : ralentissement du cœur, relèvement de la tension artérielle, réchauffement des extrémités, suppression de l'hypothermie, recoloration des muqueuses, et finalement survie des animaux.

Les observations que l'on trouvera dans les chapitres précédents d'animaux traités après saignée par du sérum physiologique montrent par comparaison que ce traitement est moins satisfaisant. C'est également d'ailleurs ce qu'avait constaté Sappey.

Nous rappelons de plus qu'après administration d'hémoglobine en goutte à goutte à des chiens chloralosés et abondamment saignés, nous avons pu obtenir la survie dans un cas sur deux, tandis que les deux animaux témoins, traités de la même façon par du sérum physiologique, sont morts en quelques heures.

2° Les dosages que nous avons faits des gaz du sang chez nos chiens nous permettent de conclure que l'hémoglobine contribue à maintenir dans l'organisme la capacité totale du sang en oxygène, et épargne, à cet égard, pendant quelques heures, les processus réactionnels déclenchés par cet organisme pour aboutir à ce résultat. Ceci cependant demande à être expliqué.

Nous rappelons que la capacité totale du sang en oxygène représente la quantité d'oxygène total que peut fixer l'hémoglobine de 100 cc. de sang. En d'autres termes, cette valeur exprime la quantité d'hémoglobine contenue dans 100 cc. de sang. Or, comme nous avons eu soin de doser non seulement cette capacité totale, mais aussi la quantité d'hémoglobine contenue dans le plasma, nous avons pu, dans chaque cas, savoir la part qui revenait aux globules rouges et à l'hémoglobine plasmatique dans la composition de la capacité totale.

Pour suivre l'évolution de l'une et l'autre de ces deux valeurs, il est indispensable de se reporter aux graphiques des figures que nous avons données dans les chapitres pré-

cédents, relativement aux dosages des gaz du sang chez les chiens soumis à une injection d'hémoglobine. Pour la commodité de l'exposé, nous reproduisons d'ailleurs ici

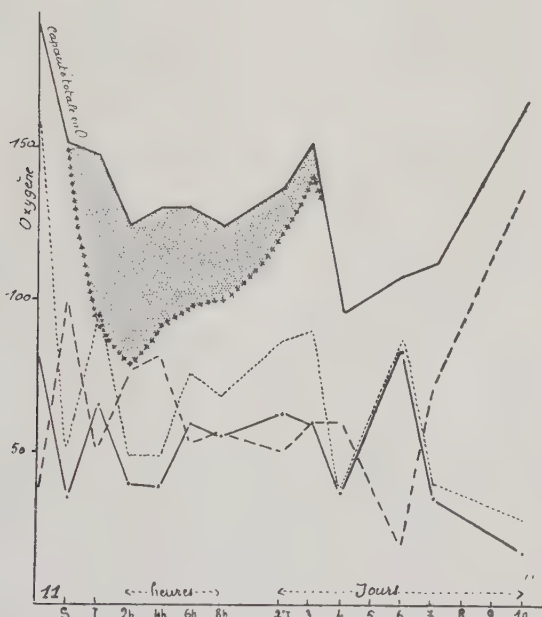


FIG. 26. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 77, traité après saignée par une injection intraveineuse d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100 (Observat. XII).

La partie ombrée correspond à l'hémoglobinémie plasmatique.

(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

l'une de ces figures, que l'on peut considérer comme un exemple typique (fig. 26).

Sur ces graphiques nous avons représenté par des reports de pointillés les aires représentatives de la part revenant, dans la constitution de la capacité totale, à l'hémoglobine dissoute dans le plasma. La ligne qui limite ces

aires en haut n'est autre que celle qui représente la capacité totale en oxygène... La ligne qui délimite ces aires en bas les différencie des aires représentatives de la part qui revient aux globules rouges.

A titre de comparaison, nous reproduisons également ici une courbe représentant les variations de la capacité

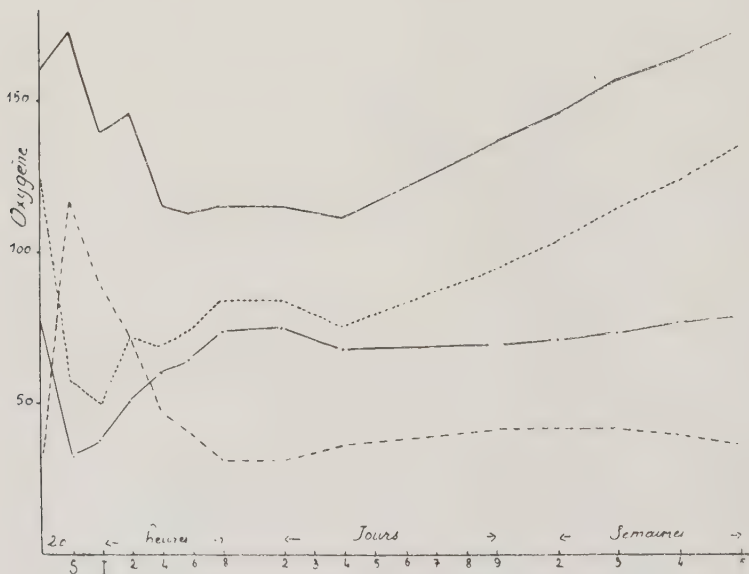


FIG. 27. — Dosages d'oxygène dans le sang du chien 81, traité après saignée par une injection de sérum physiologique (Obs. XLIV).

(Trait noir supérieur : capacité totale. — Trait noir inférieur : saturation oxyhémoglobinée. — Tirets : oxygène du sang. — Pointillés : oxygène absorbé.)

S : après saignée. — I : après l'injection.

totale en oxygène d'un animal qui, après saignée, reçoit une injection de sérum physiologique (fig. 27).

On voit sur ces graphiques que, pendant quelques heures après l'injection d'hémoglobine, la capacité totale en oxygène ne décroît pas, comme elle le fait régulièrement chez les animaux simplement saignés ou traités par du sérum physiologique; et le taux de l'hémoglobine globu-

laire reste lui-même à un niveau à peu près constant. Mais, très rapidement, l'hémoglobine plasmatique diminue. Or, au fur et à mesure qu'elle disparaît du plasma, l'hémoglobine globulaire croît. Il est certain qu'à ce moment, l'organisme réalise un effort pour compenser cette fuite en oxygène et déverse dans la circulation ses globules rouges en réserve. Comme il arrive souvent, en biologie, cette réaction dépasse son but et il en résulte que, malgré la disparition progressive de l'hémoglobine dissoute dans le plasma, le taux de l'hémoglobine totale s'accroît. Mais cet effort ne peut durer indéfiniment, et bientôt on assiste à l'abaissement progressif de la capacité totale en oxygène, les courbes reprenant l'allure qu'elles ont chez les animaux saignés et traités ultérieurement par du sérum physiologique ou non traités par l'administration de liquide compensateur.

En définitive, comme un simple coup d'œil sur les deux courbes ci-jointes (fig. 26 et fig. 27) permet de s'en rendre compte), toute la différence qui existe entre l'évolution de la capacité totale en oxygène chez les animaux traités par des solutions d'hémoglobine et celle qui se produit chez les animaux traités par du sérum physiologique, est illustré dans le premier cas, par l'existence d'une élévation en clocher dont la pointe correspond à la fin de l'hémoglobinémie, tandis que dans le deuxième cas, la chute de la capacité totale en oxygène est dans le même temps progressive et régulière.

3° L'étude de la saturation oxyhémoglobinée nous a permis également de mettre en évidence le rôle de transporteur d'oxygène, joué par l'hémoglobine hétérogène injectée dans la circulation. Nous rappelons que cette valeur représente le rapport existant entre la quantité d'oxygène du sang et la capacité totale en oxygène.

Or il suffit de jeter un regard sur la fig. 28 pour se rendre compte que les solutions d'hémoglobine ont agi sur cette

valeur à peu près de la même façon que les transfusions de sang.

Si nous exprimons en effet par un chiffre la vitesse de réascension de la saturation oxyhémoglobinée, l'unité correspondant par définition à une augmentation de 10 p. 100 du taux de cette valeur en deux heures, les chiffres obtenus pour les deux premières heures furent de 5 en moyenne, dans les deux cas des chiens ayant subi la transfusion, et de plus de 4 en moyenne chez les dix chiens traités par une solution d'hémoglobine.

Il ne semble pas d'ailleurs que le taux de la solution en hémoglobine ait une grosse importance à cet égard, ni que

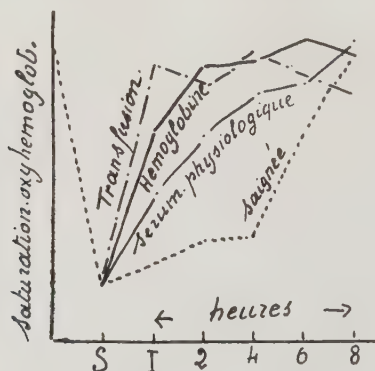


FIG. 28. — Graphique montrant la variation comparative de la saturation oxyhémoglobinée en fonction de la nature du liquide injecté après saignée.

S : après saignée. — I : après l'injection.

l'homohémoglobine ait donné de meilleurs résultats que l'hétérohémoglobine. Les vitesses les plus grandes que nous ayons constatées furent observées chez les deux chiens traités avec de l'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100. Elles furent égales respectivement à 5,9 et 5,6 p. 100, chiffres d'ailleurs parfaitement concordants.

En ce qui concerne les chiens traités au sérum physio-

iologique, la vitesse de réascension de la saturation oxyhémoglobinée fut plus lente. Les chiffres exprimant cette vitesse sont nettement inférieurs à ceux des deux précédents groupes (0,5 et 3,3).

Ils sont encore plus bas, en ce qui concerne les chiens qui ne reçurent, après saignée, aucune injection de liquide compensateur. C'est dans ce cas que nous avons observé les vitesses les plus faibles (0,5 et 1,1).

L'étude comparative des résultats obtenus à cet égard dans ces deux derniers groupes d'expériences montre d'ailleurs que le sérum physiologique n'est pas sans action sur les phénomènes de l'hématose. Cette action est toutefois bien moins importante que celle qu'exercent dans des conditions analogues l'injection de solution d'hémoglobine ou la transfusion sanguine.

En résumé, l'hémoglobine injectée dans la circulation joue un rôle réellement actif :

1° Parce qu'elle combat efficacement les troubles cliniques provoqués par les fortes déperditions de sang et peut éventuellement permettre la survie des animaux, alors même que ces déperditions ont atteint des proportions mortelles.

2° Parce que, pendant tout le temps où elle circule sous forme d'oxyhémoglobine dans les humeurs, elle contribue à rétablir la saturation oxyhémoglobinée et à freiner la chute de la capacité totale en oxygène du sang, épargnant ainsi momentanément les efforts faits par l'organisme dans ce sens.

CHAPITRE IX

De l'influence d'une injection d'hémoglobine sur la régénération globulaire des animaux ayant préalablement subi une saignée.

Nous avons fait chez chacun de nos chiens, dont les observations ont été consignées antérieurement, des numérations globulaires aussi fréquentes que possible. Nous avons utilisé à cet effet l'hématimètre de Hayem et le liquide de Marcano. D'une manière générale, ces numérations ont été effectuées : à l'état normal, immédiatement après la saignée, et, après l'injection : toutes les deux heures le premier jour, une fois par jour au cours de la semaine suivante, et une fois par semaine ensuite jusqu'à ce que l'animal ait recouvré le nombre d'hématies qu'il possédait à l'état initial.

Les résultats sont consignés dans les tableaux ci-joints.

TABLEAU DES NUMÉRATIONS GLOBULAIRES EFFECTUÉES CHEZ NOS CHIENS TRAITÉS, APRÈS SAIGNÉE, PAR UNE INJECTION INTRA VEINEUSE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL A 14 P. 100.

	<i>Chien 71</i>		<i>Chien 77</i>	
	G. R.	G. B.	G. R.	G. B.
Normal	6.200.000	18.600	6.448.000	21.028
Après saignée	4.588.000	6.200	5.363.000	24.748
Après injection	»	»	6.101.000	7.440
Deux heures après	»	»	4.357.000	27.900
Quatre heures après ...	5.084.000	31.620	4.123.000	32.240
Six heures après	»	»	4.247.000	24.800
Huit heures après	»	»	4.247.000	31.000
Deuxième jour	5.270.000	92.000	4.061.000	49.600
Troisième jour	5.084.000	33.400	4.123.000	52.220
Quatrième jour	»	»	4.402.000	49.600
Cinquième jour	5.355.000	24.180	3.379.000	38.540
Sixième jour	5.487.000	31.620	»	»
Septième jour	»	»	4.123.000	31.100
Huitième jour	»	»	4.395.000	21.080

TABLEAU DES NUMÉRATIONS GLOBULAIRES EFFECTUÉES CHEZ NOS CHIENS TRAITÉS, APRÈS SAIGNÉE, PAR UNE INJECTION INTRA VEINEUSE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL A 6,5 P. 100.

	<i>Chien 74</i>		<i>Chien 75</i>	
	G. R.	G. B.	G. B.	G. B.
Normal	6.169.000	12.400	6.208.000	9.920
Après saignée	4.495.000	25.509	6.882.000	6.880
Après injection	4.774.000	18.600	5.146.000	31.000
Quatre heures après ...	4.278.000	14.880	5.425.000	19.840
Six heures après	»	»	5.487.000	15.500
Huit heures après	4.526.000	12.400	»	»
Deuxième jour	4.371.000	17.980	4.371.000	13.364
Troisième jour	3.906.000	21.080	»	»
Quatrième jour	3.038.000	11.640	4.495.000	17.050
Cinquième jour	3.069.000	9.236	4.991.000	15.500
Sixième jour	»	»	5.084.000	14.260
Septième jour	4.154.000	10.850	»	»
Deuxième semaine	5.115.000	8.680		
Troisième semaine	5.425.000	9.920		
Quatrième semaine	5.921.000	8.680		
Cinquième semaine ...	6.200.000	9.300		

TABLEAU DES NUMÉRATIONS GLOBULAIRES EFFECTUÉES CHEZ NOS CHIENS
TRAITÉS, APRÈS SAIGNÉE, PAR UNE INJECTION INTRAVEINEUSE D'UNE
SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHEVAL A 3,5 P. 100.

	Chien 73		Chien 76	
	G. R.	G. B.	G. R.	G. B.
Normal	6.634.000	30.380	6.820.000	17.980
Après saignée	5.053.000	8.680	6.510.000	13.620
Après injection	4.929.000	18.600	4.681.000	16.120
Deux heures après	»	»	4.402.000	18.600
Quatre heure après	»	»	4.247.000	21.080
Six heures après	5.115.000	11.160	4.247.000	»
Huit heures après	»	»	4.619.000	25.420
Deuxième jour	5.580.000	31.620	3.534.000	25.420
Troisième jour	5.425.000	25.250	3.058.000	22.320
Quatrième jour	5.487.000	31.620	3.565.000	28.520
Sixième jour	5.420.000	20.460	»	»
Septième jour	5.735.000	18.600	4.216.000	20.460
Deuxième semaine			5.396.000	16.740
Troisième semaine			5.737.000	13.020
Quatrième semaine			6.200.000	15.500
Cinquième semaine ...			5.828.000	12.400
Sixième semaine			6.944.000	11.780
Septième semaine			6.820.000	14.260

TABLEAU DES NUMÉRATIONS GLOBULAIRES EFFECTUÉES CHEZ NOS CHIENS
TRAITÉS, APRÈS SAIGNÉE, PAR UNE INJECTION INTRAVEINEUSE D'UNE
SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHIEN A 6,5 P. 100.

	Chien 78		Chien 84	
	G. R.	G. B.	G. R.	G. B.
Normal	6.076.000	7.600	6.634.000	9.980
Après saignée	4.774.000	11.160	6.510.000	14.880
Après injection	3.441.000	12.400	5.115.000	11.160
Deux heures après	4.154.000	13.020	4.960.000	14.220
Quatre heure après	3.875.000	14.260	4.557.000	15.500
Six heures après	3.876.000	16.120	4.217.000	16.740
Huit heures après	3.999.000	14.260	6.045.000	14.880
Deuxième jour	3.680.000	»	4.805.000	13.640
Troisième jour	3.596.000	13.020	4.836.000	16.740
Quatrième jour	»	»	5.053.000	13.640
Sixième jour	3.751.000	11.160	»	»
Deuxième semaine	4.836.000	12.400	5.549.000	11.160
Troisième semaine	4.929.000	14.880	6.014.000	16.120
Quatrième semaine	5.363.000	10.540	5.239.000	13.020
Cinquième semaine ...	6.138.000	9.360	6.076.000	9.360
Sixième semaine	5.828.000	12.400	6.200.000	11.160
Septième semaine	5.983.000	11.780	»	»

TABLEAU DES NUMÉRATIONS GLOBULAIRES EFFECTUÉES CHEZ NOS CHIENS TRAITÉS, APRÈS SAIGNÉE, PAR UNE INJECTION INTRA VEINEUSE D'UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE DE CHIEN A 3,5 P. 100.

	Chien 72		Chien 79	
	G. R.	G. B.	G. R.	G. B.
Normal	5.053.000	11.160	7.316.000	18.600
Après saignée	4.526.000	15.500	7.130.000	23.560
Après injection	3.689.000	13.640	6.735.000	17.360
Deux heures après	4.340.000	16.120	4.557.000	16.740
Quatre heure après	4.433.000	16.740	3.999.000	20.460
Six heures après	4.278.000	18.600	3.968.000	23.530
Huit heures après	4.309.000	14.880	»	»
Deuxième jour	4.805.000	13.640	3.627.000	14.260
Troisième jour	3.224.000	17.980	3.131.000	17.980
Quatrième jour	3.286.000	18.600	»	»
Sixième jour	»	»	3.193.000	19.880
Septième jour	3.813.000	16.740	»	»
Deuxième semaine	4.030.000	14.260	4.929.000	16.120
Troisième semaine	4.278.000	17.360	5.301.000	17.980
Quatrième semaine	4.309.000	18.600	5.394.000	20.460
Cinquième semaine ...	4.402.000	15.500	5.611.111	13.640
Sixième semaine	4.433.000	14.880	5.921.000	15.500
Septième semaine	»	»	6.076.000	17.360

TABLEAU DES NUMÉRATIONS GLOBULAIRES EFFECTUÉES CHEZ NOS CHIENS TRAITÉS, APRÈS SAIGNÉE, PAR UNE INJECTION INTRA VEINEUSE DE SÉRUM PHYSIOLOGIQUE.

	Chien 80		Chien 81	
	G. R.	G. B.	G. R.	G. B.
Normal	6.138.000	8.680	4.681.000	19.840
Après saignée	5.487.000	11.160	4.371.000	22.320
Après injection	4.185.000	10.540	3.131.000	23.560
Deux heures après	3.503.000	11.780	4.061.000	19.960
Quatre heure après	4.309.000	16.740	3.348.000	27.280
Six heures après	3.038.000	21.700	2.914.000	29.520
Huit heures après	3.658.000	23.560	3.337.000	23.560
Deuxième jour	2.917.000	24.800	2.728.000	20.460
Troisième jour	3.100.000	17.980	»	»
Quatrième jour	2.881.000	15.500	2.480.000	14.880
Sixième jour	3.410.000	19.840	2.728.000	22.940
Septième jour	3.658.000	22.940	3.255.000	17.980
Deuxième semaine	5.394.000	19.220	3.995.000	12.400
Troisième semaine	5.208.000	18.600	4.619.000	17.360
Quatrième semaine	4.827.000	13.640	4.898.000	14.260
Cinquième semaine ...	6.138.000	17.360	4.526.000	16.740
Sixième semaine	6.633.000	10.540	»	»

TABEAU DES NUMÉRATIONS GLOBULAIRES EFFECTUÉES CHEZ NOS CHIENS TRAITÉS, APRÈS SAIGNÉE, PAR UNE TRANSFUSION SANGUINE DE SANG DE CHIEN.

	<i>Chien 83</i>		<i>Chien 85</i>	
	G. R.	G. B.	G. R.	G. B.
Normal	4.309.000	8.680	5.270.000	9.980
Après saignée	4.650.000	11.160	5.549.000	11.740
Après injection	4.929.000	12.400	6.634.000	14.260
Deux heures après	4.216.000	15.500	5.084.000	16.740
Quatre heure après	4.433.000	13.640	6.045.000	12.400
Six heures après	4.030.000	12.400	5.611.000	19.220
Huit heures après	5.084.000	16.120	5.363.000	23.560
Deuxième jour	4.441.000	14.260	4.099.000	14.880
Troisième jour	4.061.000	19.220	4.123.000	13.020
Quatrième jour	3.534.000	21.020	3.844.000	17.980
Septième jour	3.968.000	22.940	3.875.000	14.880
Deuxième semaine	4.681.000	14.260	4.371.000	18.600
Troisième semaine	4.898.000	13.020	3.379.000	13.020
Quatrième semaine	5.301.000	16.120	5.053.000	10.540
Cinquième semaine ...	»	»	5.580.000	13.020

TABEAU DES NUMÉRATIONS GLOBULAIRES EFFECTUÉES CHEZ NOS CHIENS NON TRAITÉS, APRÈS SAIGNÉE, PAR UNE INJECTION LIQUIDIENNE.

	<i>Chien 82</i>		<i>Chien 86</i>	
	G. R.	G. B.	G. R.	G. B.
Normal	6.510.000	6.820	6.200.000	17.980
Après saignée	5.921.000	9.980	4.960.000	13.540
Deux heures après	4.619.000	8.680	4.557.000	19.220
Quatre heure après	3.844.000	12.400	4.061.000	12.400
Six heures après	3.441.000	13.020	2.170.000	22.940
Huit heures après	3.875.000	16.740	3.131.000	20.460
Deuxième jour	3.472.000	20.460	2.511.000	21.700
Troisième jour	2.914.000	23.520	3.007.000	25.560
Quatrième jour	3.007.000	22.320	3.286.000	19.840
Septième jour	4.991.000	17.980	3.596.000	16.740
Deuxième semaine	4.774.000	13.020	2.449.000	17.980
Troisième semaine	5.921.000	11.160	3.875.000	13.640
Quatrième semaine	6.210.000	9.980	4.371.000	12.400
Cinquième semaine ...	»	»	5.704.000	13.020

F. Sappey a, antérieurement à nous, étudié cette régénération après injection de solutions d'hémoglobine à 14, 7, 3,5 p. 100, ainsi qu'après injection de sérum physiologique. Ses conclusions sont les suivantes :

La vitesse de régénération globulaire dans le cas d'injection de solutions d'hémoglobine à 14 et 3,5 p. 100, est liée à la valeur de l'azotémie. Dès que l'urée sanguine s'élève, la régénération globulaire se ralentit. Dès qu'elle revient à son taux normal, cette régénération reprend. Cette influence de l'hyper-azotémie mise à part, la récupération des globules rouges serait plus rapide chez les chiens traités avec de l'hémoglobine que chez ceux qui n'ont reçu que du sérum physiologique, ou, *a fortiori*, chez ceux qui n'ont subi aucun traitement après la saignée. Les premiers recouvreraient leur nombre d'hématies normal dans une période comprise entre le dixième et le dix-septième jour après l'injection. Or, d'après les travaux de Jolly, effectués sur des chiens ayant subi, comme ceux de Sappey, une saignée de l'ordre de 40 cc. de sang par kilogramme de poids du corps, il faut une période de quatre semaines environ pour voir se rétablir le taux initial des globules rouges. Sappey admet donc que l'hémoglobine injectée possède essentiellement deux rôles, le premier, immédiat, dont l'effet est de faciliter l'hématose, dans les heures suivant la saignée, la seconde, à échéance beaucoup plus longue, favorisant, par l'apport de fer, la resynthèse de l'hémoglobine spécifique, et par cela même la vitesse de régénération globulaire.

Si nous avons vu que la première partie de cette assertion semble vérifiée d'après ce qui découle du chapitre précédent, il ne nous semble pas, par contre, que la deuxième partie soit démontrée d'après nos mesures.

On voit dans les tableaux ci-contre que sur deux chiens ayant subi une saignée de 30 cc. de sang par kilogramme de poids du corps, sans injection consécutive de sang, d'hémoglobine ou de sérum physiologique, la récupération

des globules rouges s'est effectuée en quatre semaines dans un cas (chien 82), et plus de cinq semaines dans l'autre (chien 86). Ce sont là les délais signalés par Jolly dans des cas analogues.

Des résultats identiques ont été obtenus chez les deux chiens qui furent traités après une saignée du même ordre que ci-dessus par une injection de sérum physiologique. La régénération globulaire a demandé en effet quatre semaines pour l'un (chien 80), et cinq semaines pour l'autre (chien 81).

Le temps de récupération des hématies fut plus court chez l'un des deux chiens qui subirent, après l'hémorragie provoquée, une transfusion de sang de chien, puisqu'il n'a duré que deux semaines (chien 83); mais il fut du même ordre que dans les deux cas précédents pour l'autre animal ayant pourtant été traité également par transfusion dans des conditions analogues (quatre semaines et demie pour le chien 85).

Les chiens traités par des injections d'hémoglobine, enfin, ont tous mis au minimum quatre semaines pour récupérer leur taux normal de globules rouges. Nous sommes loin des dix jours observés par Sappey.

Nous n'avons pu suivre la régénération globulaire que fort peu de temps chez les chiens soumis à des injections d'hémoglobine à 14 p. 100; la plupart de nos animaux ayant présenté des néphrites graves ou ayant été tués en vue d'examen histologiques dans des délais relativement courts. Ainsi le chien 71, qui fut sacrifié en bon état au bout de sept jours, n'a récupéré pendant ce temps qu'assez peu de globules rouges; le chien 77, qui fut sacrifié au dixième jour en état d'intoxication urémique prononcée, ne paraît avoir pu réaliser pendant cette période aucune régénération globulaire appréciable.

Nous avons fait des numérations répétées de globules rouges chez trois chiens traités par des solutions d'hémoglobine à 6,5 p. 100, dont deux avec de l'homohémoglo-

bine, et un avec de l'hétérohémoglobine. Le temps de récupération du taux initial des globules rouges fut de cinq semaines pour le chien traité avec de l'hémoglobine de cheval, et de sept semaines pour les deux chiens traités à l'hémoglobine de chien.

Nous avons suivi également l'ascension du taux des globules rouges chez trois chiens traités avec des solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100, dont une d'origine chevaline et deux d'origine canine. Le temps de régénération, dans le premier cas (hémoglobine de cheval) fut de plus de six semaines (chien 72); et dans les deux autres cas (hémoglobine de chien), il fut respectivement de cinq semaines (chien 83), et de plus de sept semaines (chien 72).

Il est assez difficile de faire des comparaisons entre le temps de récupération globulaire des différents chiens parce que les réactions semblent très variables d'un animal à l'autre à cet égard. Le hasard a voulu que les animaux témoins fussent des animaux jeunes et en parfait état, tandis que plusieurs de ceux qui ont reçu des injections d'hémoglobine étaient plus âgés et en moins bon état général. La difficulté de se procurer des chiens dans une ville comme Bordeaux ne nous a pas permis de choisir nos sujets à ce point de vue, au long de notre expérimentation.

Par ailleurs, nous avons réalisé chez nos animaux traités par nos solutions d'hémoglobine des prises de sang répétées pour effectuer nos différents examens et il est certain que ces petites saignées quotidiennes, aux doses de 20 à 25 cc. ont dû retarder la récupération des globules rouges.

Il n'en reste pas moins que l'administration d'hémoglobine par voie intraveineuse ne paraît pas avoir stimulé, au moins d'une manière très appréciable, la formation d'hématies nouvelles, ainsi que le pensait Sappey. Il est très remarquable, d'ailleurs, que les résultats soient les mêmes, qu'il s'agisse d'hétéro ou d'homohémoglobine.

Par contre, l'entrave, signalée par cet auteur, qu'apportent les néphrites à la régénération globulaire, semble en

effet assez importante ainsi que nous l'avons vu chez nos animaux qui reçurent une solution d'hémoglobine à 14 p. 100, et notamment chez le chien 77, qui fut sacrifié *in extremis*, en état d'urémie : au bout de dix jours, le taux des globules rouges ne s'était pour ainsi dire pas relevé. De même, parmi les animaux qui furent traités avec des solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100, la régénération globulaire fut excessivement lente chez le chien 72, qui présenta précocement une néphrite, persistante même après sept semaines, et chez lequel le nombre de globules rouges était encore fort loin d'être arrivé à son taux initial au bout de ce temps.

Nous verrons plus loin, à propos du dosage du fer dans les organes de nos animaux traités par nos solutions d'hémoglobine, que le pigment qui n'est pas éliminé par les urines et les selles se trouve déposé dans la trame des différents tissus, et surtout dans le poumon, le foie et la rate. Il faut croire que ces inclusions de substances ferrugineuses dans les organes, où ils font figure de corps étrangers plutôt que de matières premières immédiatement récupérables, ne servent pas, d'une manière précoce tout au moins, à l'hématopoïèse.

CINQUIÈME PARTIE

QUE DEVIENT L'HÉMOGLOBINE INJECTÉE DANS L'ORGANISME ?

Une fraction de l'hémoglobine injectée dans la circulation est éliminée par les urines pour peu que le seuil d'excrétion de cette substance se trouve dépassé.

Etant donnée l'importance de cette déperdition, nous nous sommes proposé d'en étudier les modalités.

La plus grande partie de l'hémoglobine est retenue par l'organisme. Cependant, ainsi que l'ont montré Amberson et ses collaborateurs et que nous l'avons nous-même observé, comme nous le verrons plus loin, elle ne reste pas longtemps dans le milieu circulatoire. Nous avons donc cherché ce qu'elle devient, dans quels tissus elle se fixe et quelles transformations elle peut subir. Tels sont les divers problèmes que nous étudierons dans les chapitres suivants.

CHAPITRE PREMIER

Durée et décroissance de l'hémoglobine plasmatique après injection de solutions d'hémoglobine à 14, 6,5 ou 3,5 p. 100 chez des chiens préalablement saignés.

Nous avons recherché pendant combien de temps et à quel taux l'hémoglobine injectée dans les veines circulait dans le plasma; nos dosages ont été faits à cet égard avec l'hémoglobininimètre de Zeiss. Les résultats se trouvent consignés dans les tableaux ci-dessous :

TABLEAU DES DIFFÉRENTES VALEURS DE L'HÉMOGLOBINÉMIE PLASMATIQUE OBTENUES CHEZ NOS CHIENS APRÈS SAIGNÉE DE 30 CC. DE SANG PAR KILOGRAMME DE POIDS DU CORPS ET TRAITÉS ULTÉRIEUREMENT PAR DES SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE A DIFFÉRENTS TITRES.

1° Hémoglobine de cheval

<i>Chiens n°</i>	14 p. 100		6,5 p. 100		3,5 p. 100	
	71	77	74	75	73	76
Après injection ..	3,8	4,2	2,0	2,0	1,5	1,5
2 heures après ..	»	3,4	1,2	1,8	»	1,5
4 heures après ..	»	2,8	1,0	1,3	»	1,2
6 heures après ..	2,5	2,5	0,8	0,9	0,6	0,5
8 heures après ..	»	1,8	0,3	0,5	»	0,1
Deuxième jour ..	0,9	1,1	0	0	0	0
Troisième jour ..	tr.	0,4	0	0	0	0
Quatrième jour .	0	0	0	0	0	0

2° Hémoglobine de chien

Chiens n°	6,5 p. 100		3,5 p. 100	
	78	84	72	79
Après injection	1,6	1,7	1,2	1,2
Deux heures après	1,0	1,1	1,0	0,6
Quatre heures après ..	0,8	0,6	0,7	0,3
Six heures après	0,3	0,5	0,3	0,1
Huit heures après	0,1	0,4	0,1	tr.
Deuxième jour	0	0	0	0

Il résulte de ce tableau les faits suivants :

1° L'intensité de l'hémoglobinémie plasmatique fut, immédiatement après l'injection, d'autant plus élevée que le titre de la solution d'hémoglobine injectée était lui-même plus grand. Chez les chiens traités par une solution à 14 p. 100, la moyenne de cette valeur fut à ce moment de 4 p. 100; chez ceux traités par une solution à 6,5 p. 100, elle fut de 1,8; et enfin chez ceux traités par une solution à 3,5, elle fut de 1,3.

2° Au cours des heures suivantes, cette concentration décroit et cela d'une façon régulière.

3° La durée de cette hémoglobinémie plasmatique fut d'autant plus importante que la concentration de la solution d'hémoglobine injectée était elle-même plus élevée. Chez les chiens traités par une solution à 14 p. 100, elle dura en moyenne trois jours. Chez ceux traités par une solution à 6,5 p. 100, la fin de l'hémoglobinémie se produisait dans la nuit suivant le jour de l'injection; cette dernière avait été pratiquée au cours de la matinée. On peut dire sans grande erreur que les dernières traces d'hémoglobine disparurent du plasma vers la dix-huitième à la vingtième heure. Enfin chez les animaux traités par une solution à 3,5 p. 100, l'hémoglobinémie cessa aux environs de la dixième à la douzième heure.

Amberson et ses collaborateurs ont observé que l'hémoglobine injectée dans la circulation se transforme peu à

peu en méthémoglobine et cela à la même vitesse qu'elle le ferait *in vitro*. Nous n'avons pas caractérisé cette transformation d'une manière directe mais nous avons constaté, comme il est signalé dans le chapitre III de la précédente partie, que l'hémoglobine circulant dans le plasma devenait avec le temps de moins en moins apte à absorber l'oxygène, ce qui est vraisemblablement en accord avec les conclusions d'Amberson.

CHAPITRE II

De l'élimination en dehors de l'organisme de l'hémoglobine injectée par voie intraveineuse chez le chien.

ÉTUDE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE

Deux émonctoires peuvent être principalement utilisés par l'organisme pour assurer cette élimination : l'intestin et le rein.

1° Élimination intestinale.

D'après Matsumara, une voie d'élimination normale de l'hémoglobine injectée dans la circulation serait l'intestin. L'auteur se basait sur le fait que les animaux qu'il avait traité par cette substance présentaient des phénomènes de diarrhée sanglante. Mais nous avons vu dans le chapitre I de la troisième partie de notre travail que ces accidents étaient liés à un défaut de technique dans la préparation de l'hémoglobine, qui est altérée de ce fait.

Cependant, G. Boggino a montré par des études histologiques que la cellule « a mucus » du tractus intestinal est capable d'éliminer des sels de fer (*lactate citrate oxalate*) injectés dans la circulation. G. Fontes et L. Thivolle ont montré également que même à l'état normal, une notable quantité de fer est éliminée par les matières fécales à la dose moyenne quotidienne d'environ 6 milligrammes.

Ces résultats s'appliquent-ils aux chiens traités par nos solutions d'hémoglobine ? Si l'hémoglobine est éliminée par l'intestin, nous devons la retrouver dans les matières

fécales. C'est pourquoi nous avons essayé d'y déceler la présence de ce corps.

Nous avons constaté que les selles de nos chiens ayant reçu de l'hémoglobine sont d'aspect normal. Elles ne sont ni brunâtres, ni noirâtres. Après dilution et filtration, elles ne présentent pas de spectre permettant de caractériser l'oxyhémoglobine ou un de ses dérivés. La réaction de Kastle Meyer ne donne qu'un résultat très faiblement positif (notons en passant que les chiens ont une alimentation carnée). Il semble donc très difficile d'admettre qu'une forte proportion de l'hémoglobine injectée puisse être rejetée par l'intestin.

C'est pourquoi nous avons admis sans nier sa possibilité, que l'élimination de l'hémoglobine par voie intestinale était de peu d'importance et qu'elle pouvait être facilement négligée en comparaison de la quantité du pigment qui est éliminé par les urines. Nous avons donc basé la détermination de nos bilans d'élimination d'hémoglobine uniquement sur les quantités rejetées par le rein.

2° *Élimination urinaire.*

Barkroft a établi que les substances ayant un poids moléculaire supérieur à 70.000, ne filtrent pas à travers le rein: or, le poids moléculaire de l'hémoglobine est de 68.000. Nous sommes donc à la limite de la perméabilité rénale. De plus, cet auteur montra que ce pigment peut exister à l'état polymérisé; et Geiger admet qu'il existe même sous plusieurs formes dans le sang à l'état normal. Ce fait pourrait expliquer que toute l'hémoglobine ne puisse filtrer à travers le rein. Il semble en réalité que comme pour beaucoup d'autres substances, il existe pour elle un seuil d'élimination rénal.

Ponfick, en 1875, a trouvé qu'on n'observe d'hémoglobinurie chez le chien qu'après injection dans les veines de 1 gr. 20 de sang hémolysé. En 1898, von Starck, rapportant

dans son ouvrage les études faites à cette époque avec des hémoglobines hétérogènes conclut à l'existence d'un seuil. En 1912, Pearce, Austin et Eisenbrey ont montré qu'une injection intraveineuse de 60 milligrammes par kilogramme du poids du corps déclenche une hémoglobinurie. Sellards et Minot, en 1916, trouvèrent chez l'homme qu'une injection supérieure à 25 cc. de globules rouges humains provoquait à coup sûr une hémoglobinurie. En 1929, Manwhell et Whipple montrèrent qu'après injection intraveineuse d'hémoglobine, une certaine quantité est tolérée avant qu'on n'observe l'apparition d'hémoglobinurie. Il existe donc sûrement un seuil rénal pour ce corps. Cette valeur s'exprime en milligrammes par kilogramme. Elle est remarquablement constante pour les animaux d'une même espèce. Pour l'hémoglobine de sang de chien, elle est en moyenne de 215 milligrammes par kilogramme de poids du corps. Pour les hétérohémoglobines, elle est beaucoup plus basse, soit environ 115 milligrammes par kilogramme. Ces auteurs ont montré aussi qu'une anémie sévère et prolongée ne modifie pas le seuil. Mais Lichty, Havill et Whipple ont trouvé chez le chien qu'il est abaissé de 46 p. 100 par des injections d'hémoglobine répétées quotidiennement. Le seuil reprend sa valeur primitive dans les semaines qui suivent la cessation des injections. Ils concluent pour le seuil normal, à des valeurs supérieures à celles qu'a donné Manwell, Whipple et Taylor. Bayliss, Phyllis, Tokey Kerridge et Dorothy Russel, Yoshu Fukuda et Oliver. Notons que d'après ces deux derniers auteurs, l'élimination urinaire serait d'autant plus grande que la diurèse est plus importante.

La quantité d'hémoglobine que nous injectons étant de beaucoup supérieure à ce seuil rénal, nous avons toujours constaté la présence d'hémoglobine dans les urines.

a) *Moment d'apparition de l'hémoglobine dans les urines après l'injection.* — Amberson et ses collaborateurs ont

trouvé chez des animaux dont le sang avait été entièrement remplacé par des solutions de liquide de Ringer Locke homoglobiné que l'apparition de l'hémoglobine dans les urines se fait dès la première heure. Minatoya a constaté chez le lapin que l'hémoglobine apparaît dans les urines entre la quinzième et la vingtième minute après l'injection. Webster, Engel, Lang et Amberson ont en outre montré que l'élimination rénale de l'hémoglobine par le rein de la grenouille est très influencé par le pH du liquide de perfusion.

Personnellement, nous n'avons rien de précis à ajouter à ces données. Chez nos chiens soumis à des injections lentes et continues en goutte à goutte de solutions d'hémoglobine, nous avons bien constaté que le pigment apparaissait dans les urines entre la première et la deuxième heure, mais cette constatation n'a pas grande valeur étant donné les conditions peu favorables à la diurèse où nous étions placés.

b) *Sous quelle nature l'hémoglobine injectée est-elle éliminée ?* — Les premières urines émises après administration de solution d'hémoglobine sont fortement teintées en rouge vif. Si l'émission urinaire suit de près l'injection d'hémoglobine, un examen spectroscopique montre qu'on est en présence d'oxyhémoglobine. Donc, ce pigment est éliminé sous la forme même où il a été injecté. Si, au contraire, l'élimination est retardée, soit par suite d'oligurie, soit parce que l'animal, maintenu en cage, ne veut pas uriner, on trouve presque uniquement de la méthémoglobine. Ce fait fut également signalé par Lichty, Havill, Whipple, Baker et Doods, qui constatèrent que sous l'influence du temps, on observait à la fois une déperdition quantitative de l'hémoglobine dans les urines et une transformation en méthémoglobine. Ils montrèrent, en outre, que cette transformation peut se produire à l'intérieur même de la vessie quand il y a rétention urinaire. Drabkin

également après injection de 30 cc. d'oxyhémoglobine à des lapins par voie intraveineuse, trouva que le pigment est éliminé par le rein sous forme d'oxyhémoglobine, mais que celle-ci, au contact de l'air, se transforme en méthémoglobine.

Nous signalerons à ce propos qu'Amberson et ses collaborateurs ont observé dans leurs expériences de remplacement du sang par du liquide de Ringer Locke hémoglobiné qu'à la longue, l'oxyhémoglobine était capable de se transformer en méthémoglobine dans la circulation. Cette transformation s'opérerait au bout du même temps que dans une solution conservée « in vitro » à 37°.

Durée de l'hémoglobinurie. — La durée de l'hémoglobinurie dans nos expériences a varié selon l'importance des troubles de la diurèse et des processus de néphrite déclenchés par le passage de l'hémoglobine à travers le rein. Tel chien qui présentait de graves signes d'insuffisance rénale n'élimina que très peu d'hémoglobine, et pendant très peu de temps, et chez tel autre dont la néphrite était également évidente, on vit l'hémoglobinurie se prolonger durant plusieurs jours. Au total, ce n'est que chez les animaux qui n'ont pas manifesté de troubles apparents du fonctionnement de leur rein que nous avons pu obtenir à cet égard des renseignements du même ordre. Si l'on ne tient compte que de ces cas, on peut dire que la durée d'élimination fut d'autant plus grande que la quantité d'hémoglobine injectée fut plus importante. C'est ainsi que chez les quelques chiens qui purent recevoir des solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100 sans présenter de signes cliniquement évidents de néphrite l'hémoglobinurie dura environ ^{vingt-quatre} ~~deux~~ heures. Chez les nombreux animaux que nous avons soumis à des injections d'hémoglobine à 6,5 ou 7 p. 100 et qui, comme nous l'avons vu, n'ont pas présenté de troubles de leur appareil rénal, l'élimination de l'hémo-

globine dans les urines dura en moyenne trente-six heures. Chez l'unique chien traité par de l'hémoglobine à 14 p. 100 qui ne fit pas de néphrite grave, l'hémoglobinurie dura trois jours.

Après la cessation de cette hémoglobinurie franche, nous avons constaté une période pendant laquelle les urines ont été fortement colorées. Cette coloration était tantôt brunâtre, tantôt franchement acajou, tantôt verdâtre. Les urines restaient ainsi encore colorées durant vingt-quatre à quarante-huit heures. L'examen chimique et spectrographique de ces urines nous a montré l'absence totale d'hémoglobine ou de méthémoglobine, mais la présence à des doses plus ou moins importantes de pigments biliaires ou d'urobiline. Cette élimination fut relativement faible ou même parfois inconstante chez les chiens soumis à des solutions d'hémoglobine à 14 ou à 3,5 p. 100. Ce fut au contraire un fait d'ordre général dans les expériences conduites avec des solutions à 6,5 p. 100. Nous ne savons pas comment expliquer cette différence de comportement des animaux, selon le titre de la solution d'hémoglobine qu'ils reçurent. Mais nous pensons que cette hémoglobinurie et cette urobilinurie peuvent s'expliquer pour une part par une biligénie intrarénale, et pour une autre part par stimulation de la fonction biliaire du foie.

Mann Sheard, Bolimann et Baldes ont montré qu'après perfusion de la moelle osseuse du tibia et de la rate par des solutions d'hémoglobine, la quantité de bilirubine était nettement supérieure dans le sang efférent de ces tissus que dans le sang artériel, ce qui prouve bien la possibilité d'une biligénie locale.

Kun Sribhishthag Hawkins et Whipple ont établi par ailleurs, après établissement de fistule biliaire convenable, que des solutions d'hémoglobine de chien, administrées par voie intraveineuse, provoquent une augmentation de l'élimination des pigments biliaires par le foie.

e) *Elimination quantitative. — Bilan d'élimination.* — D'après ce que nous avons dit antérieurement, nous avons considéré comme suffisante l'étude de l'élimination urinaire de l'hémoglobine pour l'établissement du bilan. Nos dosages d'hémoglobine furent effectués dans les urines à l'aide de l'hématimètre de Zeiss.

Les résultats que nous avons obtenus sont consignés dans le tableau.

TABLEAU DES BILANS D'ÉLIMINATION D'HÉMOGLOBINE CHEZ LES CHIENS
SOU MIS A UNE INJECTION INTRAVEINEUSE D'UNE SOLUTION A DIFFÉ-
RENTS TITRES, ADMINISTRÉE A DOSE THÉRAPEUTIQUE, APRÈS SAIGNÉE.

1° *Hémoglobine de cheval*

a) A 14 p. 100.

	Quant. HbO inject.	Quant. totale élim.	Coef. élim.
<i>Chiens n°</i> 71	22,4	8,32	37 %
77	31,5	2,7	8
74 <i>bis</i>	28,0	2,00	8
84 <i>bis</i>	42	0,7	2
87 <i>bis</i>	42	11,2	27

b) HbO 6,5 p. 100.

<i>Chiens n°</i> 74	13,0	7,0	54 %
75	8,7	2,6	30
88	24,0	9,7	40
94	7,8	2,5	35
95	19,5	6,7	34
96	11,7	4,1	35
97	24,3	8,3	34
101	18,5	3,1	17
102	8,5	2,2	26
103	13,0	4,5	34
104	11,7	4,0	34

c) HbO à 3,5 p. 100.

<i>Chiens n°</i> 73	7,3	4,6	50 %
76	7,8	2,7	34

1° *Hémoglobine de cheval*

a) A 6,5 p. 100.

<i>Chiens</i> n° 78	16,5	3,4	20 %
84	21,0	6,6	31

b) A 3,5 p. 100.

<i>Chiens</i> n° 79	10,5	2,1	20 %
72	9,3	1,1	11

Il résulte de ce tableau qu'une fraction seulement de l'hémoglobine est éliminée de l'organisme. Les taux les plus constants et aussi les plus élevés ont été observés chez les chiens traités par des solutions d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100. Ces taux ont oscillé entre des valeurs maxima de 30 à 50 p. 100, avec une moyenne de 35 p. 100. Les chiens traités avec des solutions d'homohémoglobine de même concentration donnèrent une élimination moins importante : cette hémoglobine semble être donc mieux retenue par l'organisme que l'hétérohémoglobine.

Si l'on considère maintenant les cas dans lesquels furent injectées des solutions à 14 ou 3,5 p. 100, on constate que les taux d'élimination furent beaucoup plus inconstants. Ils furent respectivement de 37, 8,5, et 2 p. 100 pour les chiens 71, 77 et 84, traités avec de l'hétérohémoglobine à 14 p. 100; de 20 et 11 p. 100 pour les chiens traités avec de l'homohémoglobine à 3,5 p. 100. Ces différences s'expliquent aisément. Toutes les fois, en effet, que l'animal a présenté des troubles d'altération rénale, l'élimination d'hémoglobine fut plus faible. C'est la raison pour laquelle nous avons trouvé des taux d'élimination assez réguliers et relativement importants. Chez les chiens traités par les solutions à 6,5 ou à 7 p. 100, qui, comme nous l'avons vu, n'ont pas présenté de lésions graves de leur rein. Dans le cas des deux autres concentrations, au contraire, les néphrites furent plus fréquentes et plus importantes et, par suite, l'élimination de l'hémoglobine plus faible.

(*) Amerson et ses collaborateurs, chez des animaux dont de liquide de Ringer Locke hémoglobiné avait également constaté que la quantité d'hémoglobine passant dans les urines était plus faible quand la concentration de l'hémoglobine injectée était à 14 p. 100, mais nous savons par le contexte de leur travail que les reins de leurs animaux étaient noirs.

En résumé :

1° L'élimination de l'hémoglobine injectée dans la circulation s'effectue en quasi totalité par le rein.

2° L'apparition du pigment dans les urines ne semble pas se faire avant la première heure.

3° Ce pigment est sécrété par le rein sous forme d'oxy-hémoglobine, mais dans les urines, il se transforme peu à peu en méthémoglobine. Cette transformation peut même se faire dans la vessie en cas de rétention.

4° La durée de l'élimination est variable selon que le rein est plus ou moins lésé. Toute chose égale de ce côté, elle est proportionnelle à la quantité et à la concentration de la solution injectée.

5° A la phase de véritable hémoglobinurie peut faire suite une deuxième phase caractérisée par la présence dans les urines de pigments biliaires et d'urobiline.

6° Une partie seulement de l'hémoglobine injectée est éliminée par les urines. Cette partie est peu importante quand le rein est profondément altéré. Dans le groupe des chiens soumis à une injection d'hémoglobine à 6,5 p. 100 qui ne présentaient pas une lésion importante de leur rein, le taux d'élimination fut assez constant, il correspondit en moyenne à 33 p. 100 de la quantité administrée.

Dans les deux groupes des chiens traités à 14 et 3,5 p. 100, l'élimination fut beaucoup plus faible chaque fois qu'il y eut néphrite, ce qui, surtout dans le premier cas, fut excessivement fréquent.

7° L'homohémoglobine semble mieux retenu dans l'organisme que l'hétérohémoglobine.

(*) Remplacer les deux premières lignes par : « Amberson et ses collaborateurs, chez des animaux dont le sang avait été entièrement remplacé par du liquide de Ringer Locke hémoglobiné, avait également... ».

CHAPITRE III

De la fixation dans les tissus de l'hémoglobine injectée dans la circulation

CARACTÉRISATION CHIMIQUE

D'après ce que nous venons de voir dans le chapitre précédent, il ressort qu'une forte quantité de l'hémoglobine injectée est retenue par l'organisme. Nous avons cherché à localiser d'une façon aussi précise que possible ce pigment. Ne pouvant déterminer chimiquement ses différents produits de dégradation, nous nous sommes bornés à doser le fer dans les divers organes, en nous basant sur le fait que l'hémoglobine, ainsi que beaucoup de ses dérivés, sont des composés ferrugineux. Mais le problème est ici fort complexe du fait de la présence de ce métal, d'une part dans l'hémoglobine des hématies sanguines, et d'autre part, dans chaque tissu en tant que constituant normal. Or, le degré d'irrigation sanguine d'un tissu est variable et la quantité d'hémoglobine contenue dans le sang étant par ailleurs très élevée, aussi nous avons pensé que les dosages de fer effectués sur des organes non débarrassés de leur sang n'auraient pas grande signification, la valeur de l'augmentation possible de la teneur en fer après l'injection d'hémoglobine pouvant être nettement inférieure aux variations normales de la teneur en fer moyenne d'un animal à l'autre.

Nous nous sommes astreints à réaliser, avant tout dosage, l'élimination aussi complète que possible de toutes les hématies contenues dans le système circulatoire par

lavage convenable et de l'animal entier, et de chaque organe ensuite séparément.

Avant d'opérer chez des animaux traités par l'hémoglobine, nous nous sommes attachés à déterminer, bien entendu, la concentration moyenne en fer des divers organes ainsi lavés chez des chiens normaux.

Ces deux points ainsi établis, nous avons effectué alors nos recherches chez des chiens ayant reçu préalablement une solution d'hémoglobine dans les veines. Nos prélèvements furent faits immédiatement après la cessation de l'hémoglobinurie.

*1° Méthode employée pour éliminer le sang
dans les organes.*

La méthode que nous avons utilisée est dérivée en fait de celle de Whipple pour la détermination du volume sanguin des animaux. Nous avons opéré de la façon suivante. Le chien, qu'il ait été ou non traité antérieurement par une solution d'hémoglobine, est opéré sous anesthésie au chloralose. On sectionne la trachée, et on adapte à celle-ci une canule trachéale mise en communication avec un appareil à respiration artificielle dont les constantes ont été réglées auparavant en fonction du poids et du rythme respiratoire de l'animal.

Aussitôt cet appareil est mis en fonctionnement. On dénude et on ouvre ensuite les deux veines jugulaires. On adapte alors à l'intérieur d'une veine fémorale, préalablement isolée, une grosse aiguille par laquelle arrive du liquide de Ringer Locke citraté et réchauffé à 38°. Ce liquide est contenu dans plusieurs barillets gradués, d'une capacité unitaire de dix litres, reliés entre eux en parallèles, et placés à environ un mètre au-dessus du niveau de la veine fémorale du chien, de manière à créer une pression supplémentaire d'un dixième d'atmosphère. Le liquide s'écoulant de ces récipients, passe dans un échan-

geur de température, plonge dans un thermostat chauffé à 42°. La partie distale de cet échangeur se termine par un tube de caoutchouc épais qui le relie à l'aiguille intra-veineuse. Un thermomètre, intercalé dans le circuit à la sortie du thermostat, indique à chaque instant la température du liquide réchauffé. Les constantes de l'appareil sont telles qu'en régime normal de circulation le liquide sortant de l'échangeur est exactement à 40°. La déperdition calorifique mesurée une fois pour toute avec le tube en caoutchouc, reliant l'échangeur à la veine du chien, étant de 2°, le liquide de Ringer arrive donc dans la veine à la température exacte et constante de 38°.

Au bout d'un certain temps de perfusion, on met l'animal en position de Trédelenbourg. Le sang sortant des veines est collecté dans des récipients où il est soigneusement mesuré. On connaît donc à chaque instant le volume éliminé et le volume introduit.

Dans les premiers instants, c'est uniquement du sang pur qui s'écoule des jugulaires, puis, peu à peu, le liquide s'éclaircit et, au bout d'une demi-heure environ, il devient couleur carotte. Il faut, pour obtenir ce résultat, faire passer dans l'organisme cinq litres de liquide de perfusion. Il est bon d'ajouter à celui-ci du citrate de soude, faute de quoi des caillots peuvent se former dans la circulation et entraver la perfusion.

Dès la première heure, on constate que le volume du liquide éliminé est inférieur à celui du liquide injecté. Cette différence semble s'établir assez rapidement et progressivement et se fixer ensuite régulièrement à une valeur d'un litre environ pour un chien d'une vingtaine de kilogrammes.

Dans les expériences où il remplaçait intégralement le sang d'animaux par du liquide de Ringer Locke hémoglobiné, Amberson et ses collaborateurs se sont heurtés au même phénomène; les conditions expérimentales dans lesquelles ils opéraient étaient pourtant meilleures que les

nôtres, puisqu'ils injectaient un liquide à pression colloïdale osmotique importante, ce qui ne les exposaient pas, comme dans le cas de notre solution saline, à la formation d'œdème. Les auteurs craignant cependant qu'une telle rétention dans l'organisme entraînant des troubles respiratoires et circulatoires, établirent un synchronisme rigoureux entre les volumes de liquide qu'ils injectaient et les volumes de liquide qu'ils enlevaient. Nous n'avions pas à tenir compte de tels faits dans nos expériences, puisque nos animaux étaient destinés à être sacrifiés immédiatement.

Au bout de trente à quarante minutes, le chien meurt. Mais la respiration artificielle assure par la suite un brassage constant et rythmique des organes médiastinaux et abdominaux qui facilite de ce fait la circulation liquidienne.

Le liquide sortant des jugulaires devient de moins en moins teinté; et il arrive un moment où, sous une faible épaisseur, il semble rigoureusement incolore, mais la centrifugation y dénote toujours la présence d'un faible mais net culot d'hématies. Notons d'ailleurs que le liquide surnageant reste clair, ce qui indique qu'aucune hémolyse ne se produit.

Le lavage se poursuit, et cependant, d'un examen à l'autre du culot de centrifugation du liquide recueilli aux jugulaires, on constate que la faible quantité d'hématies qu'il contenait ne diminue plus sensiblement. Amberson et ses collaborateurs ont, en effet, montré que chez les chiens splénectomisés la courbe de décroissance du volume des hématies est géométrique, du type exponentiel, et de raison trois quarts, tandis que chez les chiens normaux, cette courbe n'est pas régulière. On observe vers la fin de l'expérience un « plateau splénique » durant lequel le nombre des globules rouges reste constant, parce que les réserves de la rate sont régulièrement déversées dans la circulation. Il faudrait très longtemps pour arriver à les épuiser.

C'est ainsi que, dans un cas, nous avons prolongé la perfusion pendant neuf heures, sans obtenir au bout de ce temps de meilleurs résultats qu'au bout de quatre heures. Il n'y a donc pas intérêt à attendre, et, dans la pratique, nous n'avons en général réalisé la perfusion de tout le corps que pendant trois heures, utilisant à cet effet de quinze à vingt litres de liquide de Ringer Locke.

Le chien est alors autopsié. On prélève dans les cavités thoraciques et abdominales les diverses viscères une à une, en repérant soigneusement leurs vaisseaux afférents et efférents. Ces viscères sont déjà à peu près exsangues et ne présentent de faibles colorations sanguines que sur des plages plus ou moins étendues. Le moins bien irrigué est naturellement la rate. On dénude alors l'artère ou les artères de chaque organe (pour le foie, en plus, la veine porto), on introduit dans la lumière de ces vaisseaux, aiguilles ou canules de calibre correspondant, et on les y fixe solidement par ligature externe. Par l'intermédiaire de ces aiguilles ou canules, on adapte alors le système circulatoire de ces différents organes en batterie, à des bonbonnes contenant du liquide de Ringer Locke et sous une dénivellation d'un mètre vingt environ. On laisse ainsi les viscères se laver jusqu'à ce qu'ils soient organoleptiquement décolorés et que le liquide sortant des vaisseaux efférents ne contienne plus trace d'hématies après centrifugation. Le temps nécessaire varie de deux à quatre heures, selon l'organe. Les plus difficiles à déglobuliniser sont les reins et la rate. Pour le foie et le poumon, la chose est au contraire fort aisée. Les organes étant ainsi lavés, on les sectionne et on les immerge pendant douze heures dans de grands bassins remplis d'eau distillée afin de faire leur nettoyage.

La technique précédente étant difficilement applicable aux cas du muscle et du cerveau, nous avons réalisé leur perfusion sur place de la façon suivante :

Des aiguilles adaptées dans les deux carotides et les

deux artères vertébrales sur le cadavre, dont le cou est complètement sectionné à sa base, permet d'irriguer toute la tête. On prolonge cette irrigation pendant plusieurs heures, et quand le liquide de sortie est privé d'hématies, on prélève le cerveau et le muscle masseïer, puis, après section, on les immerge comme ci-dessus dans l'eau pendant douze heures. Même en opérant ainsi, le cerveau se lave mal. On constate toujours la présence à sa surface, sous les méninges, de vaisseaux sanguins, contenant encore un peu de sang coagulé. Cette partie est enlevée soigneusement.

Après douze heures d'immersion dans l'eau des divers organes, on effectue un dernier lavage à eau courante, et on procède ensuite aux manipulations nécessaires aux dosages.

2° Technique utilisée pour le dosage du fer.

Les techniques de dosage du fer auxquelles nous pouvions avoir recours sont nombreuses, citons les méthodes suivantes :

La méthode de Nicloux et Welter, qui est une micro-méthode pondérale, basée sur l'hydrogénation de l'oxyde ferrique;

La méthode de Kujelmas, basée sur la coloration rouge du sulfocyanate ferrique et sa solubilité dans l'alcool isoamylique;

La méthode de Fontès et Thivolle, ou méthode molybdomanganométrique, qui met à profit, après la réduction du sel ferrique en sel ferreux au moyen du cuivre métallique et à chaud, l'intensité de la coloration bleue que donne ce sel en présence de réactif phosphomolybdique et la disparition ultérieure de cette coloration par oxydation au moyen d'une solution titrée de MnO_4K ;

La méthode de Zizine à l'alloxanthine;

La méthode de Knecht et Hibbert au chlorure de titane,

employée également par Henriques et Roques, et reposant sur la réduction quantitative au moyen du chlorure de titane des sels ferriques en sels ferreux avec le rhododate de K. comme indicateur de fer III;

La méthode de Fleury et Marque, qui consiste, après incinération au four à moufle de la matière à détruire, en présence de nitrate de Mg, à reprendre les cendres par de l'acide chlorhydrique, à réduire tout le sel ferrique par le mercure et à oxyder enfin le sel ferreux ainsi obtenu par le réactif phosphomolybdique de Fontes et Thivolle, avec formation corrélative de bleu de molybdène, qui, ensuite, est oxydé quantitativement par une solution de MnO^4K N/400;

La méthode étudiée par Elvehjem et Hart, Lintz, Hanzal, Hill et Farrar, qui consiste, après destruction au four électrique de la matière organique, en présence de CO_3Ca (afin d'éviter la volatilisation du chlorure ferrique), à reprendre ces cendres par de l'acide chlorhydrique, oxyder par de l'acide azotique, ajouter du thiocyanate de K. et de l'alcool isoamylique, et comparer la coloration rouge ainsi obtenue à une solution titrée en sel ferrique traitée dans les mêmes conditions;

La méthode de Lavollay qui, après incinération en présence d'acide azotique, reprend les cendres par de l'acide chlorhydrique. Le fer contenu dans cette solution est précipité en milieu acétique à un pH de 5 par de la 8-hydroxyquinoléine. Si le précipité est important, on le pèse, si non, on le dissout dans l'alcool et l'on compare colorimétriquement la coloration vert-noir obtenue.

La méthode de Drilhon, basée sur la formation de ferrocyanure ferrique, par action du ferrocyanure de K. sur une solution ferrique suffisamment diluée pour qu'aucun précipité ne se forme. L'auteur utilise la destruction nitroperchlorique de Lemate, Boinot et Kahane, avec reprise par ClH et comparaison avec un étalon.

Enfin, nous citerons une dernière méthode, une des plus

sensibles utilisée ces derniers temps pour la détermination du fer sérique. C'est celle dont le principe est dû à Hill, et qui est basée sur l'intensité de la coloration rose développée par l' α - α' dipyridyl en présence d'ion ferreux. Mais récemment Heilmeyer proposa de remplacer ce corps par un autre indicateur plus sensible et plus stable, l'orthophénantroline. Cette coloration est d'ordre beaucoup trop faible pour qu'avec de faibles quantités de fer, la comparaison puisse être établie par l'œil humain, aussi le dosage est-il effectué avec le Stephen photomètre de Pulf-rich en lumière monochromatique verte. Par cette technique, on arrive à doser quelques γ de fer p. 100. Cette méthode fut en particulier étudiée par Lederer Moesschalk, Van Goidsenhoven et Hoet.

Si nous considérons la plupart de ces méthodes, nous constatons qu'après destruction de la matière organique, les cendres sont la plupart du temps reprises par de l'acide chlorhydrique pur. Or, MM. les Professeurs Denigès et Chelle avaient eu leur attention déjà attirée par l'intensité de la coloration jaune que communiquaient des traces de fer à de l'acide chlorhydrique concentré. Nous avons cherché en conséquence à obtenir s'il ne serait pas possible d'établir un dosage colorimétrique basé sur une telle réaction. Après quelques recherches, nous avons finalement abouti à une méthode très simple et suffisamment sensible qui comprend essentiellement deux parties : minéralisation de la substance organique et reprise par l'acide chlorhydrique pur, comparaison colorimétrique de cette solution avec une solution titrée de fer dans de l'acide chlorhydrique.

a) *Destruction de la matière organique.* — Chaque organe est découpé en minces lanières. On effectue sur une fraction de cet organe la détermination de l'humidité selon les conditions habituelles. D'autre part, on prélève un poids exact, compris entre quatre et cinq grammes, que

l'on dispose dans les capsules en quartz de dix centimètres de long et de 1 cm. 5 de large. Ces capsules sont placées dans un four à moufle, chauffé aux environs de 100°. La substance se dessèche. On augmente alors progressivement la température de façon à obtenir une lente décomposition pyrogénée que l'on prolonge aussi longtemps que nécessaire, à forte température, jusqu'à ce que l'on obtienne une masse charbonneuse friable, exempte de toute masse liquide noirâtre. La durée totale de l'opération est d'environ une heure et demie.

Lorsque la décomposition pyrogénée est obtenue, on place la nacelle dans un four électrique parcouru par un léger courant d'air ou, mieux encore, par un courant d'oxygène. Ce four a été préalablement étalonné thermométriquement, dans les mêmes conditions, au moyen d'un couple thermo-électrique. On a déterminé ainsi des courbes d'échauffement en fonction, d'une part, du temps, et, d'autre part, de l'intensité du courant. Des courbes furent établies pour des intensités de 5; 4,5; 4; 3,5; 3 et 2,5 ampères, en pointant toutes les cinq minutes la température du four. On effectua aussi dans les mêmes conditions des courbes de refroidissement pour les différentes températures.

On peut ainsi connaître, sans couple thermo-électrique, uniquement en fonction du temps de chauffe et de l'ampérage fourni, la température à laquelle on opère à chaque instant. Nous avons choisi, après de nombreux essais, la température de 650° comme température optima. Au-dessous de cette température, la combustion s'éternise; au-dessus, on peut obtenir une déperdition de fer sous forme de silicates fusibles.

La capsule est poussée progressivement vers la partie la plus chaude. Le carbone s'enflamme et brûle sous l'influence du léger courant d'air aspiré par une trompe à eau. On laisse ainsi l'incinération se poursuivre jusqu'à obtention de cendres blanches. Le temps nécessaire varie

d'un organe à l'autre. Il est d'environ une demi-heure seulement pour le poumon, de deux heures environ pour la rate, le cœur, le muscle.

Quand l'incinération est terminée, on retire la nacelle; on la laisse refroidir; on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique rigoureusement pur sur les cendres; et on laisse en contact environ dix minutes. Ceci fait, on pratique le dosage proprement dit du fer.

b) *Dosage colorimétrique du fer.* — Nous rappelons que le principe de ce dosage est basé sur la coloration très intense du chlorure ferrique en solution dans l'acide chlorhydrique concentré.

L'acide chlorhydrique contenu dans la capsule est décanté dans un matras jaugé de 10 ou 20 cc., selon la teneur approximative en fer. On complète ce volume avec l'acide chlorhydrique de lavage. On centrifuge pour obtenir un liquide rigoureusement clair. On prélève 5 cc. de ce centrifugat que l'on place dans un tube à essai de diamètre convenable. Cet échantillon est comparé colorimétriquement aux tubes d'une gamme étalon obtenue par dilution convenable avec de l'acide chlorhydrique pur d'une solution mère à 1 p. 1.000 de fer dans de l'acide chlorhydrique. Ces tubes étalons correspondent à une concentration respective de 1, 2, 3, 4, 5, etc., milligrammes de fer par litre.

On peut ainsi doser des quantités très faibles de fer. Par exemple, si l'échantillon à examiner correspond à l'étalon 4, la quantité de fer contenue dans les 20 cc. de la solution chlorhydrique est égale à huit centièmes de milligramme. Les meilleures lectures s'effectuent entre les étalons 4 et 10. Pour des doses supérieures, la coloration est trop intense; on ramène alors entre ces limites par dilution convenable. Si on s'attend à une concentration inférieure à 4 milligrammes p. 100, on complète dans le premier temps à 10 cc. seulement.

Nous avons effectué pour beaucoup de nos essais des dosages en double et en triple. Les résultats obtenus ont toujours été très comparables. Des quantités théoriques de fer additionnées à du blanc d'œuf et traitées dans les mêmes conditions que précédemment, furent retrouvées avec une erreur maxima de 5 p. 100.

Il semble donc que ce soit une méthode pratique, aisée, rapide et suffisamment sensible.

3° Résultats obtenus.

Les conditions générales d'administration de l'hémoglobine ont été les mêmes dans ces recherches qu'au cours de tout notre travail. Les animaux subirent d'abord un prélèvement de sang de 30 cc. par kilogramme de poids du corps, puis on leur fit une injection intraveineuse en vingt à trente minutes, d'une quantité moitié moindre d'une solution d'hémoglobine de cheval à 6,5 p. 100, rendue isotonique au plasma sanguin de chien, de même composition minérale que ce dernier milieu, et filtrée sur filtre Seitz stérilisant.

Nous avons ainsi traité quatre chiens en vue du dosage du fer dans leur tissu. Aucun des animaux n'a présenté de troubles appréciables dans le fonctionnement de leur rein, en dehors de l'hémoglobinurie. Le lavage et le prélèvement de leurs viscères furent faits le lendemain du jour où cessa l'élimination de l'hémoglobine par les urines, et alors que ce pigment n'existait plus dans le plasma. Nous sommes donc en droit de penser que tout le pigment retenu dans l'organisme était alors fixé dans les divers organes, et il n'était pas illogique d'admettre qu'à ce moment, ceux-ci n'avaient pas encore eu le temps de les détruire ou de les éliminer. Les examens histologiques que nous avons rapportés et sur lesquels nous reviendrons plus loin sont d'ailleurs en confirmation avec cette manière de voir.

Nous avons par ailleurs fait des dosages de fer dans les

mêmes tissus de trois chiens témoins, parfaitement normaux.

L'ensemble de nos résultats se trouve groupé dans le tableau ci-joint.

TABLEAU DES RÉSULTATS OBTENUS POUR LES DOSAGES DE FER DANS LES ORGANES DE CHIENS NORMAUX ET DANS CEUX DE CHIENS ANTÉRIEUREMENT HÉMOGLOBINÉS, CES DERNIERS, AYANT ÉTÉ SACRIFIÉS LE LENDEMAIN DE LA CESSATION DE L'HÉMOGLOBINURIE.

	CHIENS NORMAUX			CHIENS HÉMOGLOBINÉS			
	92	93	98	94	95	96	97
Poumon	18,1	20,2	28,9	159,7	80,9	62,8	66,8
Rate	26,4	»	48,3	149,3	78,5	105,0	192,2
Cœur	20,6	23,1	21,0	25,6	23,9	18,2	29,7
Muscle	11,2	9,5	12,1	23,6	20,6	11,9	13,3
Rein	14,3	15,9	21,5	41,1	41,6	57,5	127,4
Gros intestin	8,0	15,7	13,1	»	15,1	»	»
Cerveau	24,5	6,5	17,0	9,3	15,1	16,1	16,4
Pancréas	9,6	12,7	9,2	»	26,7	29,6	16,7
Foie	26,7	37,7	34,6	83,2	97,9	48,8	98,8
Intestin grêle	7,2	10,9	12,1	9,5	12,2	12,7	12,0
Duodénum	»	13,5	10,2	»	21,5	13,7	16,4
Estomac	»	12,7	10,1	»	12,8	»	»

NOTA. — Les résultats sont exprimés en milligrammes p. 100 d'organe sec. Signalons que les taux d'humidité sont en moyenne de 90 p. 100 pour le poumon, la rate, le rein et les organes du tube digestif, de 80 à 85 p. 100 en moyenne pour le muscle, le cœur et le cerveau.

4° *Interprétation des résultats.*

Il résulte de la lecture de ce tableau les faits suivants :

a) *Poumon.* — Chez les chiens normaux, nous avons trouvé une teneur moyenne de fer de 22 mmgr. 4 p. 100 de tissu sec. Chez le chien normal, également, Bogniard et Whipple ont constaté un taux de 6 à 7 milligrammes d'organe frais. Cette différence s'explique par l'humidité des

organes et, compte tenu de ce facteur, il semble que nos résultats concordent avec ceux des auteurs précédents.

Chez nos chiens soumis à l'injection d'hémoglobine, nous avons trouvé un chiffre abhérant dans un cas (chien 94); c'était le premier animal que nous expérimentions de cette façon; et peut-être y eut-il quelque imperfection dans la technique du lavage des poumons. Les trois autres résultats sont du même ordre et donnent un chiffre moyen de 70 mmgr. 2 p. 100, soit une augmentation de 320 p. 100.

b) *La rate*. — Les résultats que nous avons obtenus sont moins concordants que pour les autres organes, ce qui s'explique vraisemblablement par les faits que la rate est en réalité très difficile à déglobuliniser et que nous n'avons jamais pu être sûr d'y être parvenu en totalité.

Quoi qu'il en soit, chez les chiens normaux, nous avons abouti à une moyenne de 37 mmgr. 3 de fer p. 100 d'organe. Ce chiffre est assez éloigné de celui qu'ont trouvé les auteurs précédents pour la rate à l'état frais chez le chien normal, et qui est de 25 à 30 milligrammes pour 10 grammes. Même en tenant compte du facteur d'hydratation, cela représente une teneur en fer beaucoup plus élevée que celle que nous avons constatée.

Glen Wakeham et Halerz chez le rat blanc, ont obtenu par contre des chiffres analogues aux nôtres et dont la moyenne est de 33 mmgr. 5 p. 100 d'organe sec.

Chez nos chiens soumis à une injection d'hémoglobine, nous avons trouvé une moyenne de 131 mmgr. 2 de fer p. 100 de tissu sec, soit une augmentation de 350 p. 100.

c) *Foie*. — Chez les chiens normaux, nous avons constaté une teneur en fer moyenne de 33 milligrammes p. 100 d'organe frais. Glen Wakeham et Halerz ont obtenu chez le rat blanc un taux de 83 milligrammes p. 100 d'organe sec, et Bogniard et Whipple, chez le chien, un taux de 25 milligrammes p. 100 d'organe frais. Nos résultats diffè-

rent donc ici sensiblement de ceux de ces divers auteurs.

Quoi qu'il en soit, chez les chiens ayant reçu l'injection d'hémoglobine, nous avons obtenu un chiffre moyen de 82,2 p. 100 d'organe sec, ce qui, par rapport au chiffre trouvé chez les témoins, représente une augmentation de 250 p. 100.

d) *Rein.* — Chez le chien normal, nous avons trouvé une teneur moyenne de 17 mmgr. 2 p. 100 de tissu sec, et chez les chiens soumis à une injection d'hémoglobine, des taux moyens de 46 mmgr. 7, si du moins nous ne tenons pas compte dans l'établissement de cette moyenne, du chiffre abhèrent de 127,4 obtenu dans le cas du chien 97.

e) *Muscle et cœur.* — D'après nos expériences, l'hémoglobine ne semble pas se fixer sur les muscles ni sur le cœur, tout au moins d'une manière importante. Les chiffres que nous avons obtenus, aussi bien chez les chiens normaux que chez les chiens traités par l'hémoglobine, ont oscillé entre 10 à 20 milligrammes p. 100 de tissu sec. Bogniard, Kennedy et Whipple ont abouti chez les animaux normaux, à des taux du même ordre. Ils signalent en outre que l'hémoglobine musculaire varie très peu, et qu'il faut des anémies très sévères pour constater un léger abaissement de cette concentration, et Whipple en particulier, a montré que ce n'était que sous l'influence d'exercices parfois très violents et répétés, que le taux en fer pouvait augmenter.

f) *Autres organes.* — L'hémoglobine ne paraît non pas s'être fixée d'une manière appréciable sur les autres organes; en particulier, les divers segments du tube digestif nous ont montré des taux de fer sensiblement analogues chez les chiens normaux et chez les chiens soumis aux injections d'hémoglobine. Les chiffres que nous avons obtenu à l'état normal pour ces dernières viscères concordent d'ailleurs avec ceux de Bogniard et Whipple. Il faut

signaler le cas du pancréas dont la teneur en fer moyenne fut trouvée à l'état normal de 10 mmgr. 5 p. 100 de tissu sec, alors que chez les chiens traités par l'hémoglobine, elle fut en moyenne de 22 mmgr. 5.

En dehors des auteurs que nous avons signalés plus haut et dont nous avons recoupé les résultats avec les nôtres, pour ce qui concerne du moins les organes normaux, divers auteurs ont également cherché à déterminer la quantité de fer des divers tissus chez le chien. Mais leurs conditions expérimentales et le but de leurs travaux n'étaient pas les mêmes que les nôtres, aussi ne nous y attarderons-nous pas. Achard, Bariety et Gallois ont déterminé quantitativement le fer dans le foie et la rate chez les chiens normaux et traités par des injections d'éosinate de soude. Chez les chiens normaux, ils ont trouvé dans le foie une teneur moyenne de 0 gr. 40 p. 1.000, et dans la rate, 0 gr. 84 de fer avec des écarts assez considérables d'un animal à l'autre, mais ces auteurs ont opéré sur des organes non lavés, ayant constaté que la valeur de leur humidité était constante.

Il résulte en définitive des résultats que nous avons obtenu par le dosage du fer dans les divers tissus d'animaux ayant subi une injection d'hémoglobine dans les conditions exposées ci-dessus, que les organes qui fixent le plus d'hémoglobine en solution dans le plasma sont, par ordre d'importance, la rate, le poumon, le foie et le rein.

Les pourcentages d'augmentation furent en effet :

a) Pour la rate de	350 %
b) Pour le poumon de	320 %
c) Pour le foie de	250 %
d) Pour le rein de	270 %

En ce qui concerne ce dernier organe, les résultats ne valent que dans la mesure où la filtration de l'hémoglobine dans les urines s'opère convenablement, ce qui fut

le cas chez les quatre chiens expérimentés. Il est clair que si nous avons pratiqué des dosages sur le rein de certains animaux dont nous avons ultérieurement rapporté les observations, et qui, soumis à une injection d'hémoglobine à 14 p. 100 ou à 3,5 p. 100, ont présenté des néphrites graves avec oligurie et encombrement des tubes urinaires par des cylindres chargés d'hémoglobine, les dosages eussent abouti à des chiffres tout différents.

Par ailleurs, l'ensemble des résultats que nous avons obtenus, montre comment et dans quelle proportion l'hémoglobine qui reste en circulation dans le plasma s'est fixée sur certains viscères, mais ils ne nous renseignent pas sur ce que ces viscères ont fait de cette surcharge pigmentaire et comment, ni dans quelles proportions, ni avec quelle vitesse, ils ont réussi à la liquider.

Les examens histologiques que nous allons rapporter vont, par contre, nous permettre dans une certaine mesure d'envisager les divers problèmes.

CHAPITRE IV

Evolution de l'hémoglobine au cours de son passage dans l'organisme Etude histophysiologique

Tous les processus que l'on rencontre au niveau des organes examinés sont orientés manifestement vers le but suivant : exclure du milieu intérieur l'hémoglobine étrangère administrée.

Une partie est éliminée par les reins. Une autre partie est drainée par le système sphénohépatique. Le reste se répand dans les tissus, et en particulier dans les poumons où se produit tout un travail de désintégration et de résorption.

Les divers mécanismes qui entrent en jeu dans ces trois sortes de processus sont en réalité fort complexes et comportent encore bien des points obscurs.

Nous relaterons du moins les remarques que nous avons pu faire à ces divers sujets au cours des multiples examens histologiques que nous avons pratiqués sous la direction de M. le Professeur Lacoste.

I. — ELIMINATION RÉNALE DE L'HÉMOGLOBINE

En matière d'histophysiologie rénale, on s'accorde actuellement à admettre l'intervention de deux processus essentiels dans la formation de l'urine : un processus d'extraction et un processus de résorption. Le processus d'extraction aboutit à soustraire du milieu intérieur les substances à éliminer; le processus de résorption consiste

dans des phénomènes de concentration qui ont pour effet de régler la composition de l'urine définitive.

Les processus d'extraction, de l'avis général, se passent surtout, sinon exclusivement, dans les premiers segments des tubes urinaires, corpuscule de Malpighi ou glomérules rénaux et au niveau des segments à brosse et à bâtonnets qui leur font suite. Les processus de concentration se passent au niveau des segments à bâtonnets, surtout et probablement aussi au niveau des segments excréteurs.

Dans l'ordre chronologique comme dans leur répartition le long des tubes urinaires, l'extraction précède la concentration.

Le processus d'extraction met lui-même en jeu deux ordres de phénomènes : des phénomènes de filtration glomérulaire et des phénomènes de sécrétion exocrine au niveau des cellules du segment à brosse et à bâtonnets. Tout le monde est d'accord sur l'existence de ces deux sortes d'actions, mais leur importance relative est encore mal définie. Si on admet en général que l'eau et les sels filtrent au niveau des glomérules, la discussion persiste en ce qui concerne d'autres constituants. Après avoir accordé pendant longtemps une importance majeure, et même excessive, aux processus de sécrétion tubulaire, on a remis au premier plan, et peut-être avec excès, les processus de filtration.

L'observation montre d'ailleurs qu'il existe des différences de comportement suivant les substances considérées. Certaines sont sans doute éliminées par filtration glomérulaire pure et simple, avec ou sans résorption ultérieure, d'autres sont éliminées par sécrétion tubulaire, avec ou sans résorption ultérieure.

De plus, des recherches récentes, portant sur l'élimination, soit de substances artificiellement introduites dans l'organisme, toxiques ou non, soit de constituants normaux de l'urine, conduisent à la notion que, pour certains de ces divers corps tout au moins, les phénomènes gloméru-

lares de filtration et les phénomènes tubulaires de sécrétion ne s'excluent pas : ils s'associent et se complètent.

Sur ces bases, qu'est-ce que nos expériences nous ont appris en ce qui concerne le passage de l'hémoglobine dans le rein ?

Il y a lieu de considérer, pour la commodité de notre exposé, successivement les processus d'extraction et les processus de concentration. En outre, nous avons vu que, tandis que les solutions d'hémoglobine à 6,5 ou 7 p. 100 sont rapidement éliminées par le rein et ne provoquent pas de phénomènes de rétention importants, les solutions à 3,5 et surtout à 14 p. 100 embouffent souvent les tubes urinaires et peuvent en boucher un nombre plus ou moins grand, d'où la rétention de cylindres hémoglobiniques persistants. Il y aura donc lieu, dans ce cas, de savoir comment le pigment en souffrance se trouve résorbé.

1° Considérations sur les processus d'extraction de l'hémoglobine.

Nous devons d'abord faire remarquer que l'élimination de l'hémoglobine est un phénomène précoce et évoluant rapidement. De sorte qu'il y aurait eu sans doute avantage, pour l'étudier avec plus de précision, à avoir des observations portant sur des animaux sacrifiés à divers moments au cours des vingt-quatre premières heures, alors que nos examens les plus précoces ont porté sur des sujets tués un jour après l'administration de l'hémoglobine. Il se peut, dès lors, que nous n'ayons pas toujours saisi les phénomènes au moment où ils présentèrent leur maximum d'intensité.

Quoi qu'il en soit, nous avons pu, chez certains animaux sacrifiés au bout d'un jour, nous rendre compte que l'extraction, quoique certainement très avancée, n'était pas terminée à ce moment. En effet, les capillaires de la substance corticale étaient encore distendus par des masses

homogènes colorables par le cyanol, ce qui signifie la présence de l'hémoglobine exogène dans le sang de ces capillaires.

Or, sur de telles préparations, nous avons pu faire des observations intéressantes tant en ce qui concerne la filtration glomérulaire que les phénomènes de sécrétion exocrine des cellules du segment à brosses et à bâtonnets.

a) *Filtration glomérulaire.* — Nous avons pu noter à plusieurs reprises l'existence dans la cavité glomérulaire elle-même, d'exsudats homogènes se colorant en bleu plus ou moins intense par le cyanol (microphoto XX). Ces images ne laissent aucun doute sur la réalité d'une filtration glomérulaire de l'hémoglobine qui imprègne vraisemblablement les colloïdes de l'urine provisoire issue des glomérules. Ces constatations concordent, en les confirmant et en les précisant, avec les résultats de Bayliss d'une part, de Lambert d'autre part, dans ses travaux sur l'histophysiologie rénale des batraciens urodèles. Il faut remarquer toutefois que ces images sont assez rares dans nos préparations, ce qui s'explique sans doute par le fait que l'élimination, au moment où les prélèvements furent faits, étaient en voie de régression et, aussi et surtout par le degré de dilution auquel s'effectue cette filtration glomérulaire, condition qui évidemment diminue l'affinité des exsudats correspondants pour le cyanol.

b) *Activité sécrétoire des segments à brosse et à bâtonnets.* — En ce qui concerne les processus de l'activité sécrétoire des segments à brosses et à bâtonnets, nos résultats sont également intéressants. Il est évident que si on pouvait déceler l'hémoglobine dans les cellules en question, le problème serait en fait résolu d'une façon très simple. Etant donnée la présence de masses hémoglobiniques dans les capillaires péritubulaires et l'existence, dans la lumière des tubes, de cylindres divers teintés d'hémo-

globine, une telle constatation ne laisserait la place qu'à des doutes bien fragiles.

Or, il se trouve précisément qu'en étudiant les reins d'un chien qui avait reçu 250 cc. d'hémoglobine à 14 p. 100 (chien 70), et qui fut sacrifié vingt-quatre heures après l'injection, nous avons pu faire des observations fort importantes à cet égard.

Dans ce cas nous avons constaté, d'une part la présence d'exsudats glomérulaires cyanophiles abondants, mais toujours assez rares, et d'autre part l'existence de phénomènes très actifs au niveau des cellules des segments à brosses et à bâtonnets. On trouve dans ces cellules un nombre considérable de grains souvent rangés en files, plus gros que des mitochondries et augmentant de volume à mesure qu'ils se rapprochent du pôle apical où ils atteignent de fortes tailles; ces grains sont fortement teintés par le cyanol. Au niveau de certains tubes, on assiste à l'exode de ces grains qui tombent dans la lumière des tubes où ils se fondent généralement en des masses homogènes irrégulières, plus ou moins abondantes, se colorant par le cyanol avec une intensité variable. Parfois ces grains viennent s'agréger à des masses de ce genre, déjà constituées.

L'étude de ces masses montre qu'il s'agit de cylindres chargés d'hémoglobine en voie de constitution. Ils acquerront ensuite peu à peu leur forme régulière et leur densité plus grande à mesure que, descendant le cours des tubes, ils s'enrichiront des produits d'origine cellulaire, mais, en attendant, dans les segments initiaux des tubes, ils possèdent la forme de flaques irrégulières, remplissant imparfaitement la lumière des tubes et partiellement collés aux pôles apicaux de leurs cellules. De tels processus ne vont pas sans entraîner des décapitulations cellulaires déjà réalisées ou en voie de constitution dans certains tubes, où le processus a déjà fait son œuvre. Des cellules entières, des parties étendues de la paroi tubulaire peuvent même

être entraînées par ce processus et venir intégrer leurs cadavres chargés d'hémoglobine et ceux de leurs noyaux dans les cylindres en voie de formation.

Ces images ne laissent aucun doute sur la participation que prennent les tubes contournés dans les processus d'élimination de l'hémoglobine. Elles sont confirmées par d'autres faits non moins intéressants : ce sont tout d'abord la présence de cristaux d'hémoglobine que l'on trouve avec une assez grande fréquence dans le protoplasma et même dans les noyaux des cellules des segments à brosses et à bâtonnets; ces figures sont d'ailleurs un peu plus tardives et ne s'observent guère qu'à partir de la vingt-quatrième heure.

En outre, il existe avec abondance chez le chien que nous venons d'étudier et avec une richesse moindre chez divers animaux des autres séries, des amas d'un pigment jaune d'or qui ne donne pas la réaction de Mac Callum pour la détection du fer et que nous pensons être du pigment biliaire. Ce pigment provient, sans doute possible, d'une transformation intracellulaire de l'hémoglobine en voie de transit. Il y a là un exemple de biligénie pigmentaire extrahépathique très net et tout à fait nouveau, à ma connaissance.

Quant aux processus cytologiques intracellulaires qui président à la traversée de l'hémoglobine au niveau des tubes, ils s'accompagnent de modifications du chondriome. Les bâtonnets de Heindenaine se résolvent en mitochondries et celles-ci, à leur tour, s'accroissent et se changent en grains sidérophiles, de volume progressivement croissant à mesure qu'ils gagnent les pôles apicaux de ces cellules. Ces grains qui répondent à la définition histologique des plastes, telle que l'a donnée jadis A. Prenant, sont expulsés dans la lumière des tubes, au bénéfice de disjonctions, de ruptures, de dislocations de la bordure de brosse et assez souvent de l'abrasion en masse d'une partie plus ou moins importante de la cellule. Il y a donc

concordance entre les images obtenues par les méthodes mitochondriales et par la méthode de coloration au cyanol. Il n'y a aucun doute sur le fait que, pour une grande part au moins, l'hémoglobine expulsée au niveau des tubes, l'est sous forme de grains d'origine mitochondriale imprégnés par ce pigment et lui servant de support.

2° Considérations sur les processus de concentration de l'hémoglobine.

Il nous faut envisager maintenant les processus de concentration. L'urine, au cours de sa traversée tubulaire, est soumise à des phénomènes de résorption qui l'amènent à sa composition définitive. Cette résorption ne se manifeste pas pour tous les constituants. Y sont soumises, l'eau et les substances dites à seuil d'élimination, c'est-à-dire les substances qui ne sont éliminées que lorsque leur concentration dans l'urine provisoire tubulaire dépasse le pouvoir de résorption que les cellules des tubes possèdent pour ces substances (Cordier), définition qui localise dans les cellules elles-mêmes les processus d'élimination. Le problème est donc de savoir dans quelle mesure interviennent les phénomènes de résorption sur cette urine chargée de produits hémoglobiniques. D'une façon générale, c'est au niveau des segments à bâtonnets, et tout particulièrement dans les branches ascendantes de l'anse de Henle que ces processus sont les plus actifs, ce qui se traduit par l'abondance très fortement prédominante des formations hémoglobiniques intratubulaires cyanophiles dans la zone intermédiaire du rein des chiens, par suite de la concentration progressivement réalisée à ce niveau (microphotos V, VI, VII, VIII). Ces processus sont, comme les phénomènes de l'élimination elle-même, précoces et rapides; et en quelques jours, la presque totalité des cylindres hémoglobiniques décelables au cyanol a disparu; et, par conséquent, c'est dans les tout premiers jours qu'il y a avantage à étudier le phénomène.

3° *De la résorption de l'hémoglobine retenue dans le rein dans les cas d'encombrement des tubes urinaires.*

Les faits que nous allons relater ont été observés surtout sur les préparations provenant d'animaux traités par des solutions d'hémoglobine à 14 ou à 3,5 p. 100 et qui ont présenté de graves altérations de leur appareil rénal avec rétention de cylindres hémoglobiniques dans les diverses régions de l'organe, mais tout spécialement dans les segments à bâtonnets et dans les tubes collecteurs.

Il semble qu'il se produise d'abord au niveau de ces cylindres une résorption d'eau. Des images nombreuses et diverses précisent quelques-unes des manifestations du phénomène. C'est la présence dans les cylindres de vacuoles claires, centrales ou périphériques, qui sont parfois assez abondantes pour déterminer une fragmentation en masses irrégulières ou en boules arrondies de cylindres homogènes et denses, ce qui réalise peut-être des conditions de migration et d'expulsion plus favorables de ces débris.

Dans certains cas, la résorption laisse le cylindre intact ou partiellement amenuisé : mais on constate que la cyanophilie a diminué, ce qui est peut-être en rapport avec une résorption non seulement de l'eau, mais des particules colloïdales sur lesquelles l'hémoglobine demeure fixée.

D'autres fois, on assiste à une véritable précipitation de l'hémoglobine en tablettes cristallisées, isolées et volumineuses ou petites et groupées en faisceaux, d'un aspect tout à fait inattendu.

Concomitamment à ces modifications morphologiques, on voit d'une façon précoce, dès le deuxième ou le troisième jour parfois, les cylindres être le siège d'une pulvérisation en de fins granules bruns ou bruns-verdâtres, qui flottent librement dans la lumière tubulaire, et dont

certaines sont réabsorbés par les cellules qui bordent celle-ci. Sur des pièces prélevées à des stades divers, deux jours, trois jours, six jours après l'injection d'hémoglobine, on observe des phases diverses qui réalisent en définitive des figures d'athrocytose, selon la définition que Gérard a donnée de ce terme (microphotos XXII et suivantes). L'identification des grains de pigment en question n'a pas été pour le moment poussée à fond.

Néanmoins, nous pouvons donner à leur sujet quelques indications. Il s'agit en très grande majorité de grains de pigments brun ou brun-verdâtre qui ne donnent pas la réaction du fer. Parmi eux, cependant, on en distingue quelques-uns, au moins dans les premiers temps du processus, qui donnent la réaction du fer et qui sont probablement formés par de l'hémosidérine.

Quant aux pigments qui ne donnent pas la réaction du fer, se pose à leur sujet la question non encore résolue du pigment biliaire et de l'hématoidine (pigment hémoglobinique à fer non démasquable). Quoi qu'il en soit, ce qu'il y a d'intéressant à noter pour la suite des événements, c'est la destinée de ces formations pigmentaires qui restent retenues dans l'intérieur des cellules rénales.

Rappelons tout d'abord qu'il s'agit surtout de pigment brun-verdâtre ou jaune, ne donnant pas la réaction du fer, accompagné éventuellement de rares granules donnant cette réaction. Ce pigment est dans tous les cas d'origine hémoglobinique, mais son mode de dépôt et le moment où il s'entrepasse dans les cellules est variable. Au début, le passage de l'hémoglobine au niveau des segments à broches et à bâtonnets laisse des traces, soit sous forme de cristaux intranucléaires ou intracytoplasmiques d'hémoglobine, ou sous forme de grains cyanophiles qui ont éprouvé un retard à l'élimination et qui demeurent retenus dans ces cellules. Ces diverses formations évoluent rapidement, semble-t-il, en donnant du pigment jaune-vert,

dans lequel le démasquage ne décèle pas le fer et plus rarement du pigment ferrugineux à fer démasquable.

Plus tard, on retrouve les manifestations que nous venons de décrire au niveau des segments des tubes où se fait la résorption et qui intéressent les cylindres non évacués, manifestations qui aboutissent à fixer dans les cellules rénales correspondantes par athrocytose, les mêmes enclaves pigmentaires.

L'évolution ultérieure des tubes ou portions de tube ainsi surchargés est très nette. Des réactions conjonctives péritubulaires se produisent, caractérisées par un afflux de cellules lympho-conjonctives du type polyblaste. Ces afflux déterminent autour des zones tubulaires en question des nodules inflammatoires qui aboutissent au collapsus des tubes et finalement à la liquidation des cellules ou des restes de cellules rénales chargées de pigments. Ces nodules s'organisent, se condensent et ainsi se forment des zones plus ou moins étendues de néphrite interstitielle ou plutôt des cicatrices au sein desquelles on retrouve pendant longtemps encore des cellules conjonctives qui ont phagocyté et immobilisé le pigment qui avait été retenu dans les éléments épithéliaux des tubes. La totalité du pigment dérivé de l'hémoglobine n'évolue probablement pas de cette façon. Il est probable qu'une partie importante est éliminée sous la forme de pigment biliaire par la sécrétion urinaire et qu'en somme ce ne sont que les parties qui échappent à l'entraînement par le flux urinaire qui subissent cet enclavement ultime.

Ainsi s'achève l'histoire de l'évolution rénale de l'hémoglobine que les processus d'élimination n'avaient pas réussi à faire disparaître précocement. On saisit admirablement l'effort des tissus du rein pour bloquer et mettre en marge du métabolisme général sous forme pigmentaire inerte les dérivés hémoglobiniques attardés. Mais ces processus ne vont pas sans dommages graves, dommages qui se traduisent initialement par la surcharge pigmentaire des cellules

rénales elles-mêmes et secondairement par des troubles résultant des réactions conjonctives déclanchées par la présence de ces sortes de corps étrangers à résorber.

Au total, le passage de l'hémoglobine se traduit au niveau du rein par des troubles histo-pathologiques de type tout à fait particulier.

Les glomérules sont généralement très peu touchés, probablement parce qu'une grande partie du pigment est excrétée par les segments à brosses et à bâtonnets et que la fraction qui passe à leur niveau filtre sous une concentration trop faible pour léser les épithéliums.

Par contre, l'hémoglobine produit précocement de la néphrite épithéliale aiguë, intéressant tout particulièrement les segments à brosses et à bâtonnets, qui sont le siège de processus actifs d'élimination, et retentissant dans le même temps sur les segments à résorption qui présentent des troubles liés, soit à l'action toxique de l'hémoglobine en voie de migration, soit aux processus de résorption qui se passent à ce niveau. L'intensité de ces troubles varie avec la concentration des solutions d'hémoglobine et la durée de leur élimination. Avec les solutions à 6,5 ou 7 p. 100, les altérations sont peu prononcées et sont susceptibles de réparation. Avec les solutions à 3,5 p. 100, il peut en être aussi de même dans quelques cas. Avec les solutions à 14 p. 100, le fait est plus exceptionnel encore. Dans ces deux derniers cas, et surtout dans le dernier, les altérations sont plus souvent assez graves pour être définitives.

En plus de ces troubles, il en est d'autres plus tardifs, d'un mécanisme tout différent. Ce sont des lésions cicatricielles liées à la rétention prolongée de l'hémoglobine dans les tubes et à sa liquidation sur place. Dans le cas où l'élimination a été fortement compromise, ce qui est le cas du chien 77 (Observat. XII), on conçoit que ces lésions puissent être particulièrement graves et étendues. Dans de tels cas, d'ailleurs, elles n'atteignent pas leur complet déve-

loppement, les animaux disparaissant au bout de quelques jours d'insuffisance rénale à marche rapide.

Remarquons enfin une particularité évolutive assez spéciale de ces débris hémoglobiniques; c'est le fait qu'ils donnent naissance à deux sortes de pigments qui semblent évoluer parallèlement et sans relations génétiques apparentes : du pigment brun-vert non ferrugineux (dont la nature précise reste à déterminer, mais qui est sans doute de l'hématoïdine ou du pigment biliaire, ce qui pour certains est la même chose), et un peu de pigment donnant la réaction du fer après démasquage.

II. — DRAINAGE DE L'HÉMOGLOBINE PAR LE SYSTÈME SPLÉNO-HÉPATIQUE

Si l'on constate la présence dans la rate à un moment donné de nombreux ocytes en rapport avec le stockage et la transformation du pigment, on a pu suivre avec quelque difficulté la destinée de celui-ci. Il est possible qu'il se transforme en pigment biliaire et qu'en définitive il soit éliminé sous cette forme au niveau du foie. La réalité de la participation splénique aux processus de biligénie pigmentaire n'est pas douteux (comme on peut s'en rendre compte à la lecture des travaux effectués sur ce sujet et dont on trouvera l'exposé dans la thèse de Florentin. En fait, on rencontre au niveau du foie des animaux injectés, une surcharge en pigment biliaire incontestable, qui persiste pendant un temps plus ou moins long et qui est plus ou moins accentuée, suivant les cas. Nous l'avons retrouvée au niveau de la rate sous forme de pigment ferrugineux, qui correspond au premier stade de la dislocation de l'hémoglobine.

Florentin admet plusieurs éventualités : 1° ce pigment intrasplénique évolue en pigment biliaire granuleux qui est cédé au foie. Il passe dans la cellule de Kupffer, qui

le désagrège et le cède à la cellule hépatique après réduction. Le pigment ferrugineux intrasplénique subit dans les ocytes eux-mêmes une dislocation plus profonde, qui amène la formation de pigment biliaire ultra-microscopique. Celui-ci aborde directement la cellule hépatique et est éliminé par elle.

Ce processus, qui est normal chez les batraciens et les mammifères, serait pathologique chez l'homme.

D'autres éventualités sont d'ailleurs possibles. On peut voir la cellule de Kupffer capter directement l'hémoglobine et la transformer en biliverdine, qui est éliminée par la cellule hépatique. Enfin, il existerait une biligénie intravasculaire, aboutissant, à partir des hématies, à la formation directe d'un pigment biliaire granuleux, qui serait retenu par les cellules spléniques, désagrégé par elles, cédé ensuite aux cellules de Kupffer et éliminé par les cellules hépatiques.

Nous n'avons pas cherché dans ce travail à pousser très loin l'étude de ces processus et à voir dans quelle mesure ils interviennent dans l'élimination de l'hémoglobine.

Nous devons cependant faire remarquer que nous n'avons pas rencontré d'images de biligénie intravasculaire, soit au niveau de la rate, soit ailleurs.

Nous avons vu, par contre, l'existence d'ocytes spléniques parfois très abondants au cours des deux premières semaines consécutives à l'administration d'hémoglobine.

Dans la suite, ces ocytes deviennent plus rares, et au bout d'un mois, on n'en trouve plus que quelques-uns qui se localisent avec une prédilection assez nette au voisinage des travées fibreuses de la rate. Dès ce moment, et à plus forte raison dans les temps qui suivent, on constate que des ocytes ont pénétré dans l'intérieur même de ces masses fibreuses. Souvent, on peut voir autour d'eux une réaction manifeste du tissu conjonctif caractérisée par la présence de cellules conjonctives du type polyblaste, qui sont peut-être en rapport avec la liquidation définitive de

ces formations pigmentaires. Cependant, ce n'est là le sort que d'un petit nombre de ces pigmentophores spléniques. Il paraît avoir été établi à propos d'autres objets d'étude, et notamment par les travaux de Prenant, Aswadourowa, Florentin, que le pigment ocre, ferrugineux ou hémosidé-rine se transforme en pigment biliaire non ferrugineux. Nous avons eu quelque peine à découvrir dans nos séries de chiens la réalité de ce processus; nous en avons vu cependant un exemple des plus caractéristiques sur un chien qui avait reçu une forte dose d'hémoglobine à 14 p. 100 (chien 77), et qui fut sacrifié au dixième jour. D'autres images moins nombreuses observées dans d'autres circonstances ont confirmé cette constatation. Seule la rapidité probable du processus nous a empêché de la réaliser à coup sûr sur les stades où on peut la faire avec la plus grande facilité.

La destinée ultérieure de ce pigment biliaire, formé au niveau de la rate est bien connue, il est appelé à être éliminé par le foie.

D'après divers auteurs, et notamment d'après les recherches de Florentin, on croit que ce pigment mobilisé sous forme de biliverdine ultra-microscopique aborderait directement la cellule hépatique qui l'éliminerait après réduction. Il arrive aussi que ce pigment exporté de la rate sous forme granuleuse est capté au niveau des cellules de Kupffer, désagrégué par elles et transmis aux cellules hépatiques, qui l'élimineraient après réduction.

De fait, nous avons trouvé au niveau des cellules de Kupffer, avec une fréquence d'ailleurs assez modérée, des grains de pigment vert non ferrugineux, qui reconnaît vraisemblablement en partie l'origine ci-dessus exposée.

Mais là n'est pas l'unique réaction du foie au passage de l'hémoglobine. On rencontre dans le noyau des cellules hépatiques (microphoto XXIX), des cristaux en tablettes répondant à ce que Browicz, Policard appellent des cristaux d'hémoglobine et dont ils ont observé la formation

dans ces mêmes noyaux chez le chien, précisément après injection d'hémoglobine. De telles images existent à l'état normal chez cet animal, mais elles sont incomparablement plus rares. Dans les jours qui suivent l'administration de l'hémoglobine, ces cristaux ultranucléaires en tablettes, colorables par le cyanol augmentent beaucoup. En même temps les cellules hépatiques se mettent à présenter avec une très grande fréquence de petits grains de pigment jaune d'or ou jaune verdâtre ne donnant pas la réaction du fer.

D'autre part, on voit en même temps, vers le huitième jour notamment (chez le chien 75), des cellules de Kupffer renfermant des enclaves pigmentaires donnant nettement la réaction du fer mêlées éventuellement à des grains jaune-vert. Ceux-ci augmentent peu à peu, tandis que le pigment ferrugineux disparaît. Concomitamment, on trouve dans les cellules hépatiques des masses pigmentaires jaune-vert, ne donnant pas la réaction du fer et qui sont certainement du pigment biliaire. Quelquefois, ces masses se rencontrent dans les voies biliaires. Par la suite, ces dernières images deviennent de plus en plus rares, mais on en trouve encore quelques-unes à la fin du troisième mois.

En résumé, au niveau de la cellule hépatique, un phénomène bien net apparaît, c'est celui de la formation de la bile pendant la période qui, par ailleurs, répond à la phase d'élimination du pigment exogène injecté.

Ceci prouve qu'il existe donc, dans une certaine mesure, un processus de biligénie hépatique pur assez compliqué. Une partie du pigment se forme aux dépens de l'hémoglobine qui a pénétré dans la cellule hépatique et dont on voit la trace sous forme de cristaux intranucléaires abondants. Une autre partie provient de l'évolution du pigment ferrugineux présent à un moment donné dans les cellules de Kupffer et qui se transforme en pigment biliaire ainsi que le montre son évolution ultérieure; ce pigment biliaire

est cédé aux cellules hépatiques. Il est possible d'ailleurs, et même probable, qu'une partie du pigment ferrugineux qui apparaît à un moment donné dans les cellules de Kupffer provienne de la rate.

Quant à la formation directe de pigment biliaire dans les cellules de Kupffer sans stade intermédiaire de pigment ferrugineux, elle n'est pas théoriquement impossible; mais, en fait, nous n'en avons observé aucune manifestation indiscutable; et les images de phagocytose de blocs cyanolophiles que nous avons rencontrées dans quelques foies au début du processus sont très rares et répondent vraisemblablement à des cas d'érytrophagie hépatique.

En tous cas, chose importante, tous ces processus hépatiques d'évolution pigmentaire de l'hémoglobine ne paraissent guère dépasser le trentième jour, bien qu'on trouve encore des blocs de pigment biliaire dans les cellules hépatiques à des dates plus éloignées. Mais ces images répondent à une séquelle tardive des mutations hémoglobiniques, bien plus qu'à l'évolution actuelle et active de ces phénomènes.

III. — FIXATION DE L'HÉMOGLOBINE AU NIVEAU DES POUMONS

Les réactions du poumon au passage de l'hémoglobine sont très marquées dans tous les cas. Si les phénomènes d'alvéolite sont exceptionnels et toujours discrets, par contre, il se produit, comme l'ont vu Granet, d'une part, et de Boissezon, d'autre part, un épaississement des parois alvéolaires qui sont congestionnées et envahies par de très nombreuses cellules conjonctives du type polyblaste. La distribution de ces lésions se fait généralement par territoires irréguliers, plus ou moins vastes, séparés par des plages moins atteintes et parfois d'apparence normale ou presque normale. L'intensité de la réaction diffère suivant les cas considérés. Elle varie aussi dans une certaine

mesure avec le degré de concentration des solutions; et, dans un cas où on avait administré une forte quantité d'hémoglobine à 14 p. 100, on a pu constater l'existence de foyers d'apoplexie pulmonaire, en voie de résolution au bout du dixième jour.

La réaction pulmonaire débute généralement après la vingt-quatrième heure. Elle est d'emblée très intense, et elle ne disparaît que lentement. Nous en avons encore trouvé des traces importantes sur des animaux ayant reçu de l'hémoglobine à 7 p. 100 depuis deux mois et demi et trois mois. Ces modifications ne semblèrent pas d'ailleurs altérer la santé générale des sujets.

D'autre part, les poumons de nos animaux se sont toujours montrés abondamment chargés de pigment, quoique à des degrés divers, suivant les cas. Cette constatation corrobore celle que nous avons faite lors du dosage du fer dans les organes. On se rappelle que le poumon est avec la rate l'organe qui fixe le plus l'hémoglobine en circulation dans le plasma. Chez certains chiens, nous avons obtenu un tatouage, visible en surface à l'œil nu, et s'apercevant encore, sur des pièces éclairées au xylol, après fixation jusque dans la profondeur de l'organe.

L'existence de ce pigment, manifestement en rapport avec les injections d'hémoglobine pratiquées, posent plusieurs problèmes : et il faut bien avouer que les plus discutés d'entre ceux-ci n'ont pas été entièrement éclairés au cours de nos recherches, conduites d'ailleurs en vue d'autres horizons.

Un fait cependant est indéniable, c'est que la surcharge pigmentaire du poumon décroît avec le temps. Elle est d'emblée fort importante, se maintient ainsi pendant une semaine ou dix jours au plus, en moyenne, puis elle décroît et dans beaucoup de poumons relevés, au bout de trente, soixante jours et plus, et qui sont même encore en période de réaction alvéolaire, on ne trouve que peu de cellules pigmentaires isolées dans les alvéoles ou agglomérées en

amas dans les espaces conjonctifs, sous-pleuraux, péri-bronchiques, etc...

Mais lorsque l'on veut préciser la nature de ces pigments et déterminer dans un poumon donné ceux qui sont en rapport avec les conditions de l'expérience, on se heurte à de grosses difficultés.

On sait l'extrême variété des particules pigmentées que l'on trouve normalement dans le poumon : particules de suie, particules de houille, et enfin éléments pigmentés d'origine endogène hématique.

Ces pigments peuvent se présenter sous deux formes. On les observe d'abord sous la forme du pigment ocre, donnant la réaction du fer après démasquage, semblable à celui que l'on rencontre dans d'autres organes, et particulièrement abondant dans la lésion du poumon, connue sous le nom d'induration brune. Le pigment ocre se voit sous deux aspects histologiques; ou bien il est contenu dans des cellules (ocrococytes), ou bien il est libre, épars, dans le tissu pulmonaire.

Une autre forme du pigment pulmonaire d'origine sanguine serait, pour certains auteurs, représentée par du pigment noir très résistant aux décolorants et aux solvants.

Ce pigment a été étudié, dans ces dernières années, avec beaucoup de soin, par Jousset et par Parrot, par Chevallier et Révol, qui en affirment l'existence.

Du point de vue histophysiologique, la question a été reprise par F. Granel et Hedon, et par de Boissezon, dans des conditions d'expérience d'ailleurs assez différentes. Les résultats de F. Granel et Hédon sont particulièrement instructifs. On peut les résumer de la façon suivante :

Après injection sous-cutanée de 1 cc. d'homohémoglobine chez le cobaye, et survie de trois, huit ou douze jours, il existe des phénomènes de phagocytose au niveau des cellules nucléées de l'épithélium alvéolaire qui se chargent d'un contenu acidophile, destiné à se fragmenter et à produire du pigment ocre. Ces cellules sont devenues des

ocrocytes. Ces enclaves donnent la réaction du fer et elles se transforment en pigment noir. Les coupes soumises à la dépigmentation donnent la réaction du bleu de Prusse en formant autour du grain mélanique une auréole bleue. Ce pigment noir serait peut-être, d'après Granel, de l'hémofuscine, qui est une mélanine assez particulière que l'on considère comme un résidu probable de l'hémositidine et qui a été relevée dans divers cas pathologiques.

Personnellement, comme nous l'avons dit, nous n'avons, en règle générale, rencontré aux divers stades d'évolution de nos diverses séries de chien, que du pigment noir, résistant aux décolorants, même les plus énergiques, et ne donnant pas, même après démasquage, la réaction du fer. Ces constatations, quoique négatives, recoupées par des dosages de fer dans le poumon qui montrent l'enrichissement parallèle de cet organe en métal plaident en faveur de l'existence d'un pigment noir pulmonaire d'origine hématique à fer non démasquable par les méthodes histologiques actuellement connues. Par contre, elles n'apportent aucune confirmation à l'intéressante découverte de Granel, qui établit des liens génétiques entre le pigment ocre et le pigment noir.

Nous avons cependant observé chez un animal des faits qui montrent, non seulement que les phénomènes observés par Granel chez le cobaye sont exacts, mais aussi que l'interprétation qu'il en a donnée est légitime.

Il s'agit du chien 73 (Observation XX) qui a reçu de l'hémoglobine à 3,5 p. 100 et qui fut sacrifié au septième jour. Dans le poumon, fortement pigmenté de cet animal, on trouve des cellules isolées ou groupées en amas qui contiennent des enclaves de pigment noir, ne donnant pas la réaction du fer. On observe en outre de nombreux ocrocytes typiques avec de multiples enclaves pigmentaires granuleuses donnant la réaction du fer après démasquage; des ocrocytes montrant après démasquage par le fer un mélange de grains bleus et de grains noirs; et enfin des

cellules isolées ou groupées en amas, dont le cytoplasme prend une teinte bleue générale, et tatouées de grains noirs de taille variable et plus ou moins nombreux.

Ces images, jointes à la constatation que dans les stades ultérieurs nous n'avons jamais rencontré d'ocrocytes et seulement du pigment noir, plaident en faveur de l'idée d'une mélanisation possible du pigment ocre au cours des mutations subies par l'hémoglobine dans sa traversée pulmonaire.

Par contre, la présence régulière à des stades précoces de pigment noir en abondance, son existence non moins régulière dans les stades ultérieurs et tardifs indique sans doute la possibilité au niveau du poumon, d'une transformation directe de l'hémoglobine en un pigment noir spécial, qui est peut-être de l'hémoglobine, comme le pense Granel.

Que ce pigment contienne du fer, cela n'est pas plus douteux pour nous que pour Chevallier et Révol; mais, du point de vue strictement histophysiologique, nous n'en avons aucune preuve : aux stades précoces ou aux stades tardifs, nous n'avons jamais pu, en effet, même après action de l'acide chlorique, ou démasquage par l'acide sulfurique, obtenir la décoloration de ce pigment, ni constater dans ces conditions, comme l'a fait Granel, la présence après la réaction au ferrocyanure de potassium d'une auréole bleue autour des grains mélaniques.

Quoi qu'il en soit, nous avons d'autres bonnes raisons de croire que ce pigment est bien lié à une forme d'élimination de déchets hémoglobiniques par le poumon. Très abondant au bout de vingt-quatre, trente-six, quarante-huit heures après l'administration d'hémoglobine, où sa présence coïncide avec une réaction pulmonaire intense, il disparaît ensuite. Cette disparition semble d'abord se faire d'une manière extrêmement active, surtout par élimination dans les voies lymphatiques prévasculaires qui contiennent de nombreuses cellules pigmentaires au cours

des quinze premiers jours. Ces cellules sont destinées à être entreposées dans les ganglions lymphatiques trachéo-bronchiques.

L'élimination par le moyen de cellules pigmentaires devenues libres dans les cavités alvéolaires et expulsées ensuite par les bronches est un processus qui existe incontestablement, mais il nous a paru moins actif que le précédent et beaucoup moins important en règle générale que nous nous y attendions. Dans la suite, on assiste à un processus de liquidation lente des blocs pigmentaires plus ou moins importants demeurés immobilisés dans les parois alvéolaires en réaction, dans le tissu conjonctif sous-pleural ou au niveau des axes vasculaires broncho-pulmonaires.

On voit ces amas englobés par des cellules conjonctives du type polyblaste qui les entourent de manière à les constituer en nodules. Ensuite ces nodules deviennent de moins en moins nombreux, de moins en moins étendus, et probablement ils se résorbent lentement, en donnant un contingent de cellules à poussière destinées à être progressivement éliminées par les voies ordinaires (bronches ou voies lymphatiques), mais peut-être aussi à être liquidées sur place par les macrophages voisins.

Des documents suffisants nous manquent encore pour affirmer d'une façon certaine cette dernière éventualité.

CONCLUSIONS

Nous nous sommes proposés de déterminer si l'on ne pourrait, sans inconvénient et avec profit, traiter une anémie aiguë par saignée à l'aide d'une injection intraveineuse d'une solution d'hétéro ou d'homohémoglobine.

Cette pratique visant à suppléer éventuellement à la transfusion de sang total, nous nous sommes placés dans des conditions expérimentales rappelant celles dans lesquelles on peut être amené à effectuer cette transfusion d'urgence en clinique.

C'est ainsi que nous avons opéré sur des animaux venant de subir une déperdition de 30 à 50 cc. de sang par kilogramme de poids du corps. Puis nous leur avons injecté dans les veines une quantité moitié moindre d'une solution d'hémoglobine de cheval ou de chien.

Le sang normal contenant environ 14 p. 100 d'hémoglobine, nous avons utilisé des solutions de titre correspondant. Mais en raison des accidents observés, nous avons également expérimenté des solutions dont le taux était la moitié ou le quart du taux précédent. A titre de comparaison, nous avons aussi effectué, dans des conditions analogues, des transfusions de sang de chien à chien, après détermination des groupes sanguins, et des injections de sérum de Hayem. Enfin, certains de nos animaux n'ont reçu après saignée aucun liquide compensateur.

L'ensemble de nos recherches, qui ont porté sur cinquante-trois chiens, nous a permis de faire des constatations intéressantes en ce qui concerne : l'efficacité, la toxicité et

l'évolution dans l'organisme de l'hémoglobine injectée dans la circulation.

1° Il n'est pas douteux qu'une solution d'hémoglobine, administrée à dose suffisante par voie veineuse à des chiens ayant subi une importante perte de sang, combat avec efficacité les accidents immédiats pouvant résulter de cette dernière.

Elle permet la survie des animaux saignés à mort. Elle redonne de la vigueur à ceux qui sont profondément abatus par la déperdition sanguine. Elle rend à la respiration son rythme et son ampleur normale. Elle relève la tension artérielle. Elle ralentit et renforce les mouvements du cœur. Elle facilite le rétablissement de la température du corps.

Son action est dans l'ensemble du même ordre que celle qu'exerce la transfusion sanguine. Elle est très supérieure à celle que détermine le sérum de Hayem. Elle ne diffère pas, du moins apparemment, que l'hémoglobine soit d'origine équine ou canine.

Une étude très minutieuse des gaz du sang nous a permis de constater que l'hémoglobine exogène ainsi administrée joue le rôle de transporteur d'oxygène. Nous avons vu, sous son influence, la chute de la capacité totale du sang en oxygène se ralentir et s'arrêter pendant un temps, et la saturation oxyhémoglobinée se relever avec rapidité. La transfusion de sang total n'agit pas avec plus d'efficacité à cet égard. Le sérum physiologique n'a pas le même pouvoir.

Malheureusement, l'hémoglobine n'exerce ce rôle que pendant un temps assez court qui correspond à la présence du pigment dans le milieu circulant. Celle-ci ne dure que quelques heures (huit à vingt-quatre heures dans nos expériences). L'hémoglobinémie persiste sans doute d'autant plus longtemps que des doses plus fortes ont été administrées. Mais, même dans les humeurs, le pigment finit par se transformer assez rapidement en méthémoglobine inactive.

L'influence d'une injection d'hémoglobine après saignée sur la régénération ultérieure des hématies nous a paru, au reste, peu marquée.

2° Si les solutions d'hémoglobine administrées dans les veines sont constamment bien supportées sur le moment, il n'en est pas toujours de même par la suite.

Bien entendu, il est indispensable qu'une technique impeccable ait été observée lors de la fabrication des solutions. L'hémoglobine est une substance très altérable, et peut donner naissance à des corps toxiques qui provoquent de violentes contractions des divers segments du tube digestif avec hémorragies profuses. Ces accidents sont le plus souvent mortels.

Nous avons établi les conditions rigoureuses dans lesquelles les préparations de liquides hémoglobinés doivent être effectuées afin d'éviter ces écueils.

Mais, même en n'utilisant que de l'hémoglobine absolument pure, l'examen clinique, l'exploration fonctionnelle de l'appareil rénal et les examens histologiques nous ont montré que les reins sont constamment lésés par le passage de l'hémoglobine dans leur sein. Il y a, cependant, de grandes différences dans l'intensité et l'évolution de ces lésions selon que la solution injectée est au taux de 14, 3,5 ou 6,5 à 7 p. 100.

Avec les solutions à 14 p. 100, on observe le plus souvent des néphrites graves, dont nous avons décrit plusieurs formes : une forme anurique rapidement mortelle; une forme oligurique entraînant progressivement la mort; une forme avec oligurie momentanée, mais néphrite persistante plus ou moins améliorable. Exceptionnellement, on peut n'observer qu'une insuffisance discrète et passagère.

Ces néphrites sont de type azotémique, avec rétention dans les humeurs de tous les déchets azotés non protéiques. Elles ne s'accompagnent ni d'œdème, ni d'ascite; et lorsque le cours des urines se rétablit, on n'observe pas de troubles

appréciables dans l'élimination des chlorures, alors même que les autres signes de néphrite restent évidents. L'albuminurie est toujours minime; mais on trouve dans les urines cylindres et hématies. Pendant longtemps on peut voir persister une diminution de l'aptitude des reins à éliminer la P. S. P.; et l'épreuve de la diurèse révèle l'existence d'une opsiurie plus ou moins marquée.

Avec les solutions à 3,5 p. 100, les accidents sont dans l'ensemble moins graves et moins constants. Les cas mortels sont exceptionnels. Les formes avec oligurie passagère mais néphrite persistante, plus ou moins améliorables, sont fréquentes. Les formes discrètes ne sont pas rares. Les troubles fonctionnels sont d'ailleurs du même type que dans le cas précédent.

Avec les solutions à 7 p. 100, on n'observe en général aucun signe d'altération rénale, ou seulement de menus symptômes : diminution de la diurèse pendant quelques heures; très légère élévation de l'azotémie pendant un jour; présence de cylindres et d'hématies dans les urines pendant quelques jours. L'examen histologique montre cependant dans ces cas des signes de néphrite épithéliale, modérée, mais indubitable et d'ailleurs rapidement curable.

Cette différence dans le degré de toxicité des solutions d'hémoglobine pour le rein, selon leur taux, nous paraît liée à ce que les solutions à 6,5 ou à 7 p. 100 sont celles qui possèdent la densité, la tension superficielle, la viscosité et surtout la pression colloïdale osmotique les plus voisines des valeurs correspondantes du plasma sanguin de chien, ainsi que nous avons pu nous en rendre compte par de multiples déterminations effectuées à ce sujet.

L'isotonicité minérale avec ce plasma, l'ajustement de la composition minérale des solutions à celle de ce dernier milieu ont une influence beaucoup moins importante sur la toxicité de l'hémoglobine que le taux de concentration sous lequel elle est injectée.

La toxicité de l'homohémoglobine n'est pas moindre

que celle de l'hétérohémoglobine vis-à-vis des reins.

Il importe de filtrer les solutions sur filtre Seitz stérilisant pour les débarrasser exactement des débris globulaires libérés au moment de la lyse des globules rouges, faute de quoi les accidents rénaux augmentent de fréquence et d'intensité.

Les facteurs individuels, liés sans doute le plus souvent à un état de débilité rénale antérieur, influent enfin sur la tolérance du rein vis-à-vis de l'hémoglobine.

L'hémoglobine ne trouble ni n'altère d'une manière importante le foie et la rate. Elle entraîne seulement, semble-t-il, des processus de suractivité fonctionnelle de la part de ces organes.

Par contre, elle provoque au niveau des poumons de l'épaississement des parois alvéolaires lié à la fixation du pigment dans leurs trames. Ces lésions peuvent être tenaces. Elles paraissent d'autant plus importantes que la quantité d'hémoglobine injectée est plus grande. Avec les solutions à 7 p. 100, elles sont un peu plus prononcées qu'avec les solutions à 3,5 p. 100. L'atteinte du poumon ne se traduit d'ailleurs cliniquement par aucun trouble.

3° L'hémoglobine injectée dans la circulation déclanche toute une série de processus qui sont manifestement tous orientés vers le même but : exclure cette hémoglobine du milieu intérieur.

L'élimination du pigment par le rein est évidemment un facteur important de cette épuration. Nous avons eu la bonne fortune d'observer, chez des animaux sacrifiés précocement après l'injection, des images qui ne laissent aucun doute sur la possibilité d'une part d'une filtration de l'hémoglobine à travers le glomérule, et d'autre part d'une sécrétion exocrine par les cellules des segments à brosses et à bâtonnets, qui expulsent le pigment dans la lumière des tubes, sous la forme le plus souvent de grains d'origine mitochondriale imprégnés par lui.

Nous avons pu constater d'ailleurs que, dans ce passage intracellulaire, l'hémoglobine peut éventuellement donner naissance à du pigment biliaire, exemple nouveau, à notre connaissance, d'un processus de biligénie pigmentaire extrahépatique très net.

Extraite ainsi du milieu circulant par les glomérules et les parties initiales des tubes contournés, l'hémoglobine se concentre ensuite dans l'urine, tout spécialement au niveau des branches ascendantes de Henle dans la zone intermédiaire du rein qui se révèle tout particulièrement chargée de pigment, ainsi que nous avons pu le montrer par de multiples figures.

Au passage, l'hémoglobine ne paraît pas léser réellement les glomérules; mais elle altère toujours les épithéliums tubulaires. Dans les cas les plus favorables, et nous avons vu qu'ils sont la règle avec les solutions à 6,5 ou 7 p. 100, on n'observe qu'un processus de néphrite épithéliale bénin, qui ne trouble pas sérieusement le fonctionnement du rein et guérit rapidement. Dans les cas les plus graves, au contraire, on assiste à un processus intense d'éclatement, de dislocation, de desquamation des cellules et même de parties étendues de la paroi tubulaire, dont les éléments sont entraînés par l'hémoglobine, et viennent intégrer leurs cadavres chargés d'ailleurs de ce pigment et ceux de leurs noyaux dans les cylindres qui se moulent peu à peu, au fur et à mesure de leur descente dans les tubes. Il en résulte qu'un nombre plus ou moins grand de ceux-ci s'obstruent, d'où des troubles de la diurèse. La situation peut s'améliorer par la suite, mais il reste le plus souvent des cylindres en rétention qui subissent une résorption lente sur place, non sans servir d'ailleurs d'axe à la constitution de foyers de néphrite interstitielle.

L'hémoglobine circulant dans les humeurs et qui n'est pas éliminée par les reins est déversée dans les tissus. Nous avons, à cet égard, dosé le fer, chez des animaux ayant subi une injection intraveineuse d'hémoglobine, dans leurs

divers organes, débarrassés au préalable de tout leur sang par une perfusion longue et minutieuse avec du liquide de Ringer-Locke. Nous avons ainsi trouvé que ce sont le poumon, la rate et le foie qui, en dehors des reins, fixent le plus d'hémoglobine.

La rate et le foie paraissent réaliser à cet égard une sorte de symbiose fonctionnelle qui aboutit à un processus d'ailleurs compliqué, de biligénie intrasplénique et intra-hépatique avec drainage par le foie.

Au sein des poumons, l'hémoglobine subit des transformations successives très complexes et d'ailleurs encore mal élucidées.

En résumé, administrée à dose thérapeutique, par voie veineuse, à des animaux en état d'anémie aiguë par forte déperdition de sang, l'hémoglobine sert de transporteur d'oxygène pendant la majeure partie du temps où elle circule dans les humeurs à l'état d'oxyhémoglobine, et permet de parer aux accidents immédiats des saignées graves avec une efficacité assez semblable à celle de la transfusion. Mais cette action, dont la durée est variable avec la quantité injectée, est cependant très passagère. Tous les efforts de l'organisme se conjuguent en effet pour extraire cette substance étrangère de son milieu intérieur et l'éliminer.

Le drainage par les émonctoires naturels, reins, système splénohépatique, assure cette élimination pour une grande part. La fixation et la liquidation *in situ* de l'hémoglobine restante se fait au niveau des tissus et plus spécialement des poumons.

Malheureusement, cette épuration ne va pas toujours sans provoquer des désordres qui sont surtout marqués au niveau des reins et des poumons. On peut parer dans une très grande mesure aux accidents rénaux en employant des solutions d'hémoglobine présentant les mêmes tonicité, composition minérale, densité, viscosité, tension superficielle, et surtout pression colloïdale osmotique que le

plasma sanguin dans lequel l'hémoglobine est injectée; et il suffit, à cet égard, d'utiliser, chez le chien tout au moins, des solutions à 6,5 p. 100, convenablement ajustées au point de vue minéral, et par ailleurs soigneusement filtrées. Mais cette technique ne suffit pas à éviter toute lésion du rein. Elle n'empêche pas de plus le poumon de présenter les réactions liées à la rétention du pigment dans son sein.

Il est vrai que les altérations histologiques constatées au niveau de ce dernier organe et, dans les conditions optimales ci-dessus décrites, au niveau du rein, ne se traduisent cliniquement par aucun symptôme important. Il n'en reste pas moins que, dans l'état actuel de nos connaissances, on ne saurait entreprendre chez l'homme sans une extrême circonspection le remplacement de la transfusion sanguine par l'hémoglobinothérapie intraveineuse.

Vu :
Le Doyen,
PIERRE MAURIAC

Vu. bon à imprimer :
Le Président,
E. AUBERTIN.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 9 Mars 1939.
Le Recteur de l'Académie,
G. BOUSSAGOL.

BIBLIOGRAPHIE

- ACHARD (Ch.), BARIETY (M.) et GALLAIS (F.). — La teneur en fer de la rate et du foie chez les chiens. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, t. CXVIII, p. 405, 1935.
- AMBERSON (W.-R.), FLEXNER (J.), STEGGERDA (F.-R.), MULDER (A.-G.) and others. — Utilisation des solutions de Ringer Locke hémoglobisées en tant que substituant du sang chez les mammifères. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, t. V, n° 3, p. 359.
- AUBERTIN (E.) et SAPPEY (F.). — Injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine de cheval comme traitement de l'anémie aiguë par saignée chez le chien. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, t. CXV, p. 233, 1936.
- AUBERTIN (E.), WANGERMEZ (C.) et SAPPEY (F.). — Pression colloïdo-osmotique et toxicité des solutions d'hémoglobine hétérogène en injection intraveineuse chez le chien. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, t. CXV, p. 236, 1936.
- BARKROFT (E.). — Discussion sur l'hémoglobinurie. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, vol. XXVIII, p. 671, 1930.
- BAYLISS (L.), PHYLLIS (E.), TOOKEY KERRIDGE (M.) et RUSSEL (S.). — Excrétion des protéines par les reins. *Journal of Physiology*, t. 77, p. 386, 1933.
- BERT (P.). — Transfusion avec l'oxyhémoglobine. *Leçons de Physiologie comparée de la respiration*, Baillière, édit., p. 98, 1870.
- BIERRYNG (E.), NIELSEN (A.) et NIELSEN (E.). — Etude comparative des méthodes de Haldane et de Van Slyke. *Acta Medica Scandinavica*, supp. LXXVIII, p. 174, 1936.
- BOGGINO (G.). — Recherches sur l'élimination des sels de fer

- par le tube digestif. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, t. 106, n° 7, p. 604, 1931.
- BOGNIARD (R.-P.) et WHIPPLE (G.-H.). — Variation de la concentration en fer des tissus privés de sang dans l'anémie et après injection d'hémoglobine. *The Journal of Experimental Medicine*, t. 55, p. 654, 1932.
- DE BOISSEZON (P.). — Etat histologique des organes du lapin immunisé contre les globules rouges du mouton. *Journal de Physiologie et de Pathologie générale*, t. 33, p. 922, 1935.
- Etat réactionnel du poumon au cours de diverses immunisations pratiquées par voie sous-cutanée. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. 56, mai 1936.
- BRULL (L.). — Excrétion d'albumines étrangères et perméabilité du rein aux albumines propres. *Revue Belge des Sciences Médicales*, n° 36, p. 629, 1932.
- BRULL (L.). — Influence d'albumines étrangères sur le rein. *Revue Belge des Sciences Médicales*, t. VI, n° 8, sept.-oct. 1934.
- BRUYNOGHE (G.). — L'hémoglobine. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, n° 8, p. 824, 1935.
- CARTHY (Mc.). — Courbes de dissociation et pression osmotique d'hémoglobine de différentes espèces. *Journal of Pathology*, t. 86, p. 77, 1936.
- COUYREUR et CLÉMENT. — Sur la toxicité de l'oxyhémoglobine. *Mémoires de la Soc. de Biol.*, p. 612, 7 juin 1919.
- DELAUNAY (H.). — A la recherche d'un liquide physiologique pour le traitement des hémorragies graves. *Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*, t. XXXVIII, 1930.
- Traité de physiologie normale et pathologique. Hémorragies, t. VII, p. 167, 1926.
- DELAUNAY (H.) et ORLY. — Sur la transfusion de globules rouges hétérogènes après les hémorragies graves. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, t. CI, p. 373, 1929.
- DESTELLE (E.). — Le sérum gommé dans le traitement des hémorragies graves. *Thèse Médecine*, Bordeaux, D. Gomez, imp.

- DRABKIN (R.). — Chute de l'hémoglobine injectée dans la circulation sanguine. *Journal of Biological Chemistry*, t. 109, p. 27, 1935.
- DRILHON (A.-M.). — Microdosage du fer dans le sang et les liquides organiques. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, t. 109, p. 1234, 1932.
- FARRAR (G.). — Détermination du fer en biologie. *Journal of Biological Chemistry*, t. 110, p. 685, 1935.
- FIRKIT (J.) et SAENTZ ARBELAEZ (C.). — Nouvelles études histophysiologiques de l'élimination des sels ferriques par le rein. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, t. 107, n° 26, p. 1586, 1931.
- FLEURY (P.) et MARQUE (J.). — Dosage du fer sanguin par molybdomanganimétrie. *Bulletin de la Soc. de Chimie Biologique*, t. XI, p. 1123, 1929.
- FLORENTIN (P.). — Recherches expérimentales sur la Bili-génie pigmentaire normale et pathologique. *Thèse*, Nancy, 1924.
- FLORKIN (M.). — La fonction respiratoire du milieu intérieur dans la série animale. *Association des Physiologistes*, huitième réunion, Nancy, 23 mai 1934.
- FONTES (G.) et THIVOLLE (L.). — Microdosage du fer. *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, t. V, p. 325 et 782, 1923.
- — Bilan de fer chez le chien normal. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, t. 109, n° 11, p. 909 et 911, 1932.
- — Recherches expérimentales sur la thérapeutique de l'anémie grave par carence martiale, et notamment par hémorragie. *Le Sang*, t. VII, n°s 3, 4 et 5, 1933; *Ibid*, t. X, n° 9, 1936.
- — Sur la fixité du rapport entre le fer et la capacité respiratoire maxima (déterminée par CO) dans le sang normal et dans le sang anémique. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, n° 38, p. 1190, 1931.
- FORBES (G.). — Courbes de dissociation de l'oxygène des solutions diluées d'hémoglobine de cheval. *Le Sang*, t. VII, p. 608, 1933.
- GIRARD (R.) et CORDIER (R.). — Histophysiologie rénale. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, t. CVIII, p. 799, 1911.

- GRANEL (F.). — Recherches histologiques sur le fer du poumon. *Compte rendu de l'Association des Anatomistes*, Prague, 1928.
- Recherches histologiques sur les modifications de l'hémoglobine injectée dans l'organisme. *Archives d'Anatomie microscopique*, t. XXV, p. 104, 1929.
- GRANEL (F.) et HÉDON (L.). — Le pigment mélanique du poumon des mammifères. Recherches expérimentales sur sa formation. *Bulletin d'Histologie appliquée*, déc. 1928, t. V, p. 405.
- GUILHON (J.). — Note au sujet d'une méthode pratique de recherche des pigments ferriques du foie. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, t. 115, p. 376, 1934.
- HALDANE (J.). — Dosage de l'oxygène sanguin. *Journal of Pathology and Bacteriology*, t. XXIII, p. 443, 1931.
- HENRIQUES (V.) et ROCHE (M^{me} A.). — Sur le fer du sérum sanguin de différentes espèces animales. *Bulletin de la Société de Chimie biologique*, t. IX, p. 501 et 527, 1927.
- HERBERT HOESSLER (M.-D.). — Influence de la diurèse sur l'hémoglobinurie. *The Journal of Experimental Medicine*, t. 35, p. 515, 1922.
- HERR (A.-L.). — Les néphropaties graves consécutives à la transfusion sanguine. *Thèse Médecine*, Paris, 1933.
- JOUSSET (A.). — Les pigmentations pulmonaires et la fixation de l'anthraxose. *Presse médicale*, t. 1, n° 30, 1928.
- KENNEDY (R.-P.) et WHIPPLE (G.-H.). — Identité de l'hémoglobine musculaire et sanguine. *American Journal of Physiology*, t. LXXVI, p. 685, 1926.
- KUGELMAS (M.). — Microméthode de détermination du fer dans les solutions colloïdales. *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, t. IV, p. 577, 1922.
- KUN SRIBHISTHAG (W.-B.), HAWKINS et WHIPPLE (G.-H.). — Hémoglobine et pigments biliaires chez le chien normal. *American Journal of Physiology*, t. LXXXVI, p. 447, 1931.
- LAMBIE (C.-G.). — Pathologie fonctionnelle de l'anémie. *The Medical Journal of Australia*, t. II, n° 10, p. 378, 1937.
- LAVOLLAY (M.-J.). — Micro et submicrodosage colorimétrique

- du fer. *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, t. I, p. 432, 1935.
- LEDERER (J.) et DE MOESSCHALCK (A.). — Le dosage du fer sérique. *Archives internationales de Médecine Expérimentale*, vol. XIII, fasc. n° 2, juin 1938.
- LÉVY (M.), MIGNON (S.) et NETTER (A.). — Point isoionique de l'hémoglobine et des protéines du sérum sanguin. *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, t. XVII, p. 1311, 1936.
- LICHTY (J.), HAVILL (H.) et WHIPPLE (G.-H.). — Filtration rénale de l'hémoglobine chez le chien. *Journal of Experimental Medicine*, t. LV, p. 603, 1932.
- MANN (F.), SHEARD (Ch.), BOLIMAN (J.-L.) et BALDES (E.-T.). — Formation de pigments biliaires aux dépens de l'hémoglobine. *American Journal of Physiology*, t. LXXVI, n° 2, p. 306, 1926.
- MANWELL (E.-T.) et WHIPPLE (G.-H.). — Filtration rénale de l'hémoglobine. *American Journal of Physiology*, t. LXXXVIII, p. 420, 1929.
- MARTINI (A.-G.) et SCHULER (B.). — Transformation de l'oxy-hémoglobine en méthémoglobine sous l'influence des rayons ultra-violets. *Zeitschrift für die gesamte Experimentelle Medizin*, t. LXXXIII, p. 211, 1932.
- MATSUMARA (S.). — Toxicité des solutions d'hémoglobine. *Mitt. a. d. med. Fak. d. K. Univ. zu Tokyo*, t. XXIII, p. 465, 1919.
- MEYER (V.). — Recherches sur la physiologie comparée de la pression colloïdale osmotique du milieu intérieur. *Thèse Faculté des Sciences*, Lyon, 1937.
- MILLER (D.-K.) et ROADS (C.-P.). — Effets d'injections d'hémoglobine sur la régénération globulaire de lapins rendus anémiques par saignée. *The Journal of Experimental Medicine*, t. LIX, p. 333, 1934.
- MINATOYA (T.). — Injection d'hémoglobine et hémoglobinurie. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, t. XXIV, n° 11, 28 sept. 1934.
- MOLINE (R.). — Accidents rénaux de la transfusion. *Thèse Médecine*, Paris, 1935.
- MULDER (A.-G.), AMBERSON (W.-R.), STEGGERDA (R.-R.) et

- FLEXNER (J.). — Consommation d'oxygène avec le liquide de Ringer hémoglobiné. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, t. V, p. 383, 1934.
- NEWMANN (W.) et WHIPPLE (G.-H.). — Injection d'hémoglobine et conservation de ce pigment par le rein. *The Journal of Experimental Medicine*, t. LV, p. 637, 1932.
- NICLOUX (M.) et WELTER (G.). — Analyse élémentaire microchimique du fer organique. *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, t. III, p. 170, 1921.
- ORE. — Etudes historiques et physiologiques de la transfusion du sang, p. 164, 1868.
- ORLY (A.). — Transfusion de globules rouges hétérogènes après les hémorragies graves. *Thèse Médecine*, Bordeaux, 1928, Y. Cadoret, imp.
- POLICARD (A.). — Rôle du chondriome dans la transformation des cristaux intracellulaires de la cellule hépatique. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, 1912.
- Le Poumon. Structure et mécanisme à l'état normal et pathologique. Paris, Masson, 1938.
- POMMERENCKE, SLAVIN, KARIHER et WHIPPLE (G.-H.). — Métabolisme des protéines du plasma sanguin de chien injectées par voie intraveineuse à ce même animal, et du plasma sanguin de cheval. *The Journal of Experimental Medicine*, vol. LXI, n° 2, p. 283, 1935.
- ROCHE. — Caractères spectraux et spécificité des hémoglobines. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, n° 19, p. 317, 1933.
- SAPPEY (F.). — Traitement des anémies expérimentales aiguës par saignée chez le chien à l'aide de solutions d'oxyhémoglobine de cheval. *Thèse Médecine*, Bordeaux, 1935. Delmas, imprimeur.
- SCHMIDT (J.-H.). — *Deutsches Archiv. für Klinische Medizin*, t. LXXXI, p. 225, 1907.
- SELLARDS (A.-W.) et MINOT (G.-R.). — Injections d'hémoglobine chez l'homme. *Journal Med. Research.*, t. 34, p. 469, 1916.
- SHOTSU (M.). — Etude histologique du foie et de la rate après Injection de globules rouges hémolysés. *Japan Journal of Experimental Medicine*, vol. II, p. 107, 1933.

- STRUMZA (S.) et RUBINSTEIN (P.). — Réserve alcaline et chlore sanguin dans l'anémie expérimentale prolongée du chien. *Le Sang*, t. VIII, p. 660, 1934.
- TAYLOR (G.-B.), MANWELL (E.-J.), ROBSCHUIT-ROBBINS (F.-S.) et WHIPPLE (G.-H.). — Régénération sanguine dans les anémies graves. *American Journal of Physiology*, t. LXXXII, p. 408, 1930.
- TOMPSETT (S.-L.). — Cuivre et fer inorganique des tissus. *Biochemical Journal*, t. XXIX, p. 480, 1935.
- VAN GOIDSENHOVEN (F.), HOET (J.) et LÉDERER (J.). — Le fer sérique en chimie humaine. *Revue Belge des Sciences Médicales*, t. X, n° 4, avril 1938.
- WAKEHAM (G.) et HALENZ (H.-F.). — Distribution du fer dans certains organes de rats blancs normaux ou anémiés. *Journal of Biological Chemistry*, t. 115, p. 429, 1936.
- WEBSTER (M.-D.), ENGEL (F.), LAUG (E.) et AMBERSON (W.). — Influence du pH sur l'élimination de l'hémoglobine par des reins de grenouille perfusés. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, t. V, n° 3, p. 399, 1934.
- WERA DUCE. — Recherches sur les solutions d'hémoglobine obtenues par dialyse et conservées pendant longtemps. *Archives Italiennes de Biologie*, t. LXXXIII, p. 64, 1935.
- WHIPPLE (G.-H.). — Variation du taux de l'hémoglobine du muscle strié avec l'âge et sous l'influence d'exercices. *American Journal of Physiology*, t. LXXV-LXXVI, p. 693, 1925-1926.
- WHIPPLE (G.-H.) and others. — Régénération sanguine dans les anémies sévères. *The American Journal of Physiology*, t. LXXII, p. 385, 1925; t. LXXIX, p. 260, 271 et 280, 1926-1927; t. LXXXIII, p. 362 et 408, 1930; t. LXXXII, p. 76, 1927-1928.
- YOSHU FUKUDA et OLIVER. — Etude fonctionnelle et anatomique de l'excrétion de l'hémoglobine par le rein. *Journal of Experimental Medicine*, t. XXXVII, p. 83, 1923.
- ZIZINE (P.). — Méthode de dosage du fer. *Thèse Médecine*, Paris, 1925.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	Pages 9
------------------------	------------

PREMIÈRE PARTIE

Historique

CHAPITRE I ^{er} . — Recherches antérieures sur les troubles toxiques et les effets physiologiques de l'hémoglobine administrée en solution par voie parentérale	13
CHAPITRE II. — Recherches antérieures sur les altérations anatomiques produites par l'hémoglobine administrée par voie parentérale	21

DEUXIÈME PARTIE

Préparation de nos solutions d'hémoglobine et techniques opératoires

CHAPITRE I ^{er} . — Préparation des solutions d'hémoglobine dans de l'eau distillée à partir de sang frais	29
CHAPITRE II. — Ajustement des solutions d'hémoglobine dans l'eau distillée à un abaissement cryoscopique correspondant à celui du plasma sanguin de chien	38
CHAPITRE III. — Ajustement des solutions d'hémoglobine dans l'eau distillée à une densité correspondant à celui du plasma sanguin de chien	43
CHAPITRE IV. — Recherches de la correspondance de la tension superficielle du plasma sanguin de chien, avec les solutions d'hémoglobine à différents titres	46
CHAPITRE V. — Recherches de la correspondance des viscosités du plasma sanguin de chien avec nos solutions aqueuses d'oxyhémoglobine à différents titres	48
CHAPITRE VI. — Recherches sur les pressions osmotiques colloïdales du plasma sanguin de chien et de solutions aqueuses d'oxyhémoglobine de cheval et de chien à différents titres	51

	Pages
CHAPITRE VII. — Le pH et les solutions d'hémoglobine	63
CHAPITRE VIII. — Ajustement des solutions d'hémoglobine aux constantes minérales du plasma sanguin de chien ..	64
CHAPITRE IX. — Du choix de la composition optima des trois solutions d'oxyhémoglobine utilisées dans notre expéri- mentation	67
CHAPITRE X. — Conditions générales d'expérimentation	74

TROISIÈME PARTIE

Etude toxicologique des solutions d'hémoglobine en injections intraveineuses chez le chien en état d'anémie expérimentale aiguë par saignée.

CHAPITRE I ^{er} . — Méthodes d'observations des animaux traités, après saignée, par des injections intraveineuses d'hémo- globine	79
CHAPITRE II. — Troubles toxiques graves dus à des solutions d'hémoglobine altérées	86
CHAPITRE III. — Etude toxicologique de l'hémoglobine en solution à 14 p. 100 administrée à dose thérapeutique, par voie veineuse, à des chiens ayant subi auparavant une forte saignée	94
CHAPITRE IV. — Etude toxicologique de l'hémoglobine en solution à 3,5 p. 100 administrée à dose thérapeutique, par voie intraveineuse, à des chiens ayant subi préalable- ment une saignée importante	138
CHAPITRE V. — Etude toxicologique de l'hémoglobine en solu- tion à 6,5 ou 7 p. 100, administrée par voie veineuse à dose thérapeutique, à des chiens en état d'anémie aiguë par saignée	176
CHAPITRE VI. — Etude toxicologique des solutions d'hémoglo- bine de cheval à 7 p. 100, administrées en goutte à goutte par voie veineuse, à des animaux chloralosés et en état d'anémie par saignée	233
CHAPITRE VII. — Considérations générales sur la toxicité des solutions d'hémoglobine vis-à-vis des organes étudiés	243

QUATRIÈME PARTIE

Dans quelle mesure l'hémoglobine injectée dans la circulation est-elle utilisée dans l'organisme ?

CHAPITRE I ^{er} . — Considérations générales sur les effets clini- quement évidents des injections de solution d'hémoglobine chez des chiens ayant subi des saignées importantes	249
--	-----

	Pages
CHAPITRE II. — Méthodes d'observations et techniques concernant l'étude de l'action de l'hémoglobine dans le processus de l'hématose chez nos chiens	254
CHAPITRE III. — Etude des gaz du sang chez des chiens ayant subi une saignée puis une injection intraveineuse d'une solution d'hémoglobine	258
CHAPITRE IV. — Etude des gaz du sang chez des chiens ayant subi une saignée sans traitement consécutif ultérieur	291
CHAPITRE V. — Etude des gaz du sang chez des chiens ayant subi une saignée puis une injection intraveineuse de sérum physiologique	298
CHAPITRE VI. — Etude des gaz du sang chez des chiens ayant subi une saignée puis une transfusion de sang de chien ..	306
CHAPITRE VII. — Etude des gaz du sang chez des chiens ayant subi une saignée puis traités ultérieurement par une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 6,5 p. 100 ou par une solution salée isotonique, administrée par voie veineuse en goutte à goutte	316
CHAPITRE VIII. — Aperçu d'ensemble sur l'activité de l'hémoglobine injectée dans la circulation à des animaux préalablement saignés	321
CHAPITRE IX. — De l'influence d'une injection d'hémoglobine sur la régénération globulaire des animaux ayant préalablement subi une saignée	328

CINQUIÈME PARTIE

Que devient l'hémoglobine injectée dans l'organisme ?

CHAPITRE I ^{er} . — Durée et décroissance de l'hémoglobine plasmatique après injection de solutions d'hémoglobine à 14, 6,5 ou 3,5 p. 100 chez des chiens préalablement saignés ..	338
CHAPITRE II. — De l'élimination en dehors de l'organisme de l'hémoglobine injectée par voie intraveineuse chez le chien	341
CHAPITRE III. — De la fixation dans les tissus de l'hémoglobine injectée dans la circulation	350
CHAPITRE IV. — Evolution de l'hémoglobine au cours de son passage dans l'organisme. Etude histophysiologique	366
CONCLUSIONS	387
BIBLIOGRAPHIE	395
MICROPHOTOGRAPHIES	Hors texte.

Bordeaux. — Imprimerie E. DROUILLARD, place de la Victoire, 3.

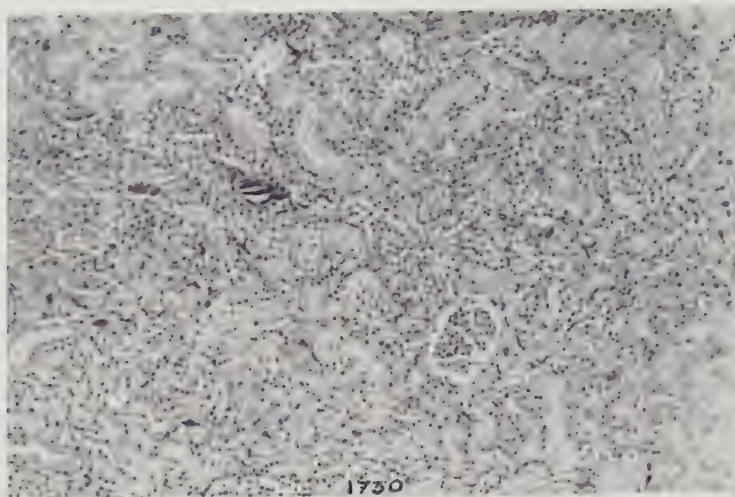
MICROPHOTOGRAPHIES

(Travail du Laboratoire d'Histologie)

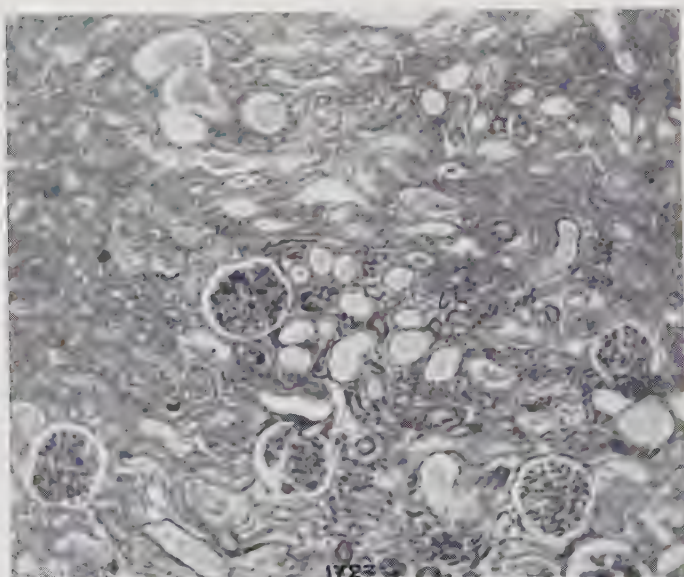
Au lieu de répartir les microphotographies dans le texte, nous avons préféré les grouper, de façon à mieux illustrer, par comparaison, les lésions observées au niveau de mêmes organes dans des conditions expérimentales différentes.

Ainsi, les quatre premières photographies, relatives à des coupes de rein prélevé précocement chez des chiens soumis à une injection d'hémoglobine à 14 p. 100 (I et II), à 3,5 p. 100 (III), et à 7 p. 100 (IV), montrent combien les altérations produites sous l'influence des solutions à cette dernière concentration, sont moins importantes que celles que déterminent les solutions à 14 p. 100 et même à 3,5 p. 100.

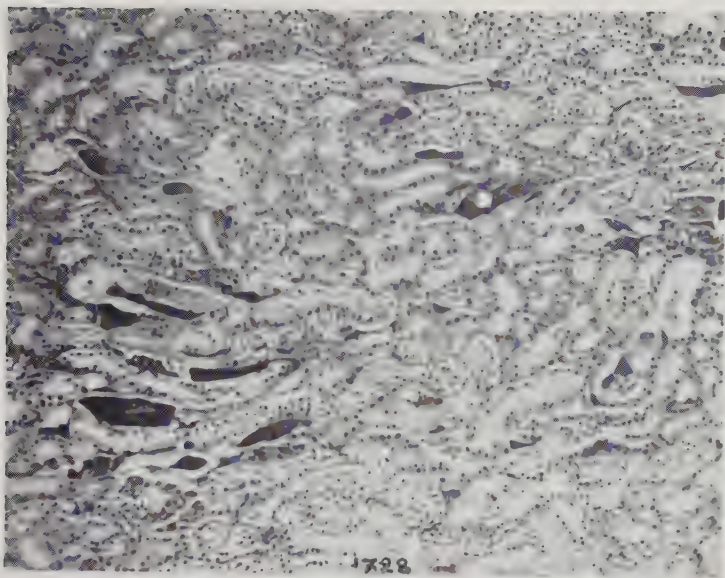
Les quatre photographies suivantes, relatives à l'imprégnation de la zone intermédiaire du rein par des cylindres hémoglobiniques, indiquent également parfaitement combien la rétention du pigment est plus importante chez les animaux traités par des solutions à 14 p. 100 que chez ceux qui furent soumis à des solutions à 3,5 p. 100 et plus encore à 7 p. 100.



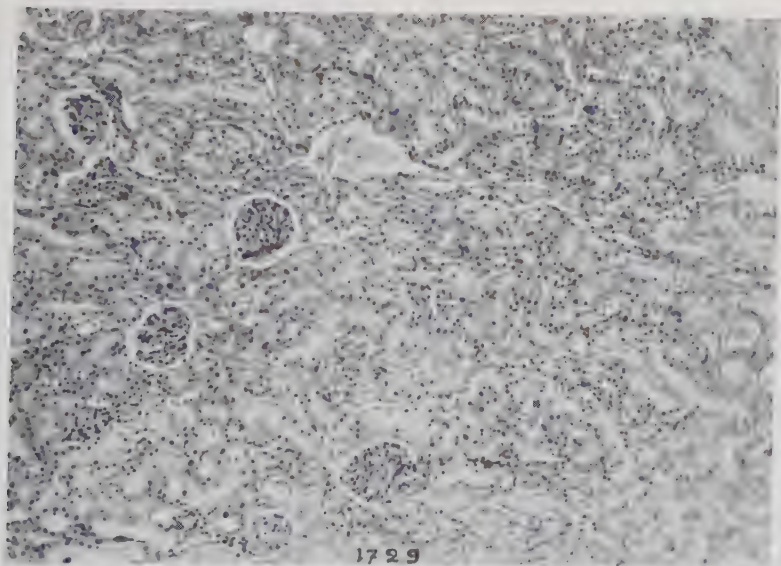
MICROPHOTOGRAPHIE I. — Rein du chien 62 (Observ. VIII). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 14 p. 100. Sacrifié au bout de quatre jours. Graves lésions de néphrite épithéliale; tubes collabés et encombrés; desquamation épithéliale; cylindres. (Hématéine éosine. Gr. 85.)



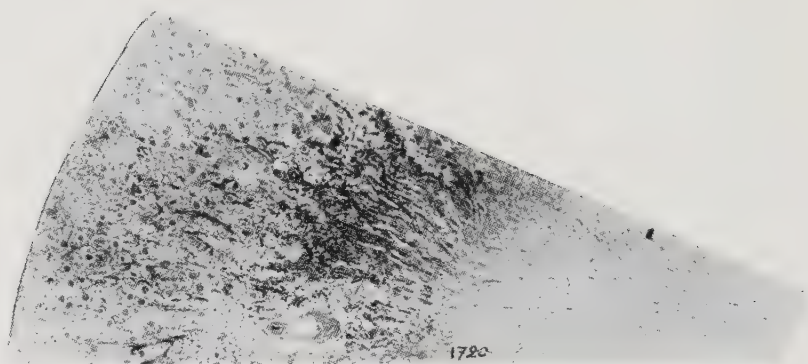
MICROPHOTOGRAPHIE II. — Rein du chien 77 (Observ. XII). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 14 p. 100. Sacrifié au bout de dix jours. Graves lésions de néphrites parenchymateuses; tubes contournés sans lumière; tubes dilatés encombrés de cylindres. (Hématéine éosine. Gr. 85.)



MICROPHOTOGRAPHIE III. — Rein du chien 31 ((Observ. XIV).
 Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à
 35 p. 100. Sacrifié au bout d'un jour. Lésions de néphrite
 épithéliale assez sévères; état flou de beaucoup de tubes
 contournés; nombreux cylindres d'hémoglobine. (Hématéine
 éosine. Gr. 85.)



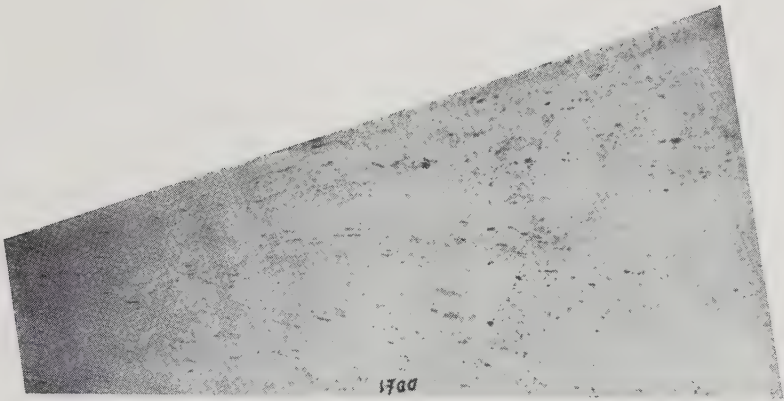
MICROPHOTOGRAPHIE IV. — Rein du chien 59 (Observ. XXIV)
 Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à
 7 p. 100. Sacrifié au bout d'un jour. Lésions de néphrite
 épithéliale très légères. (Hématéine éosine. Gr. 85.)



MICROPHOTOGRAPHIE V. — Rein du chien 62 (Ovserv. VIII). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 14 p. 100. Sacrifié au bout de quatre jours. Coupe suivant l'axe d'une pyramide. Coloration au cyanol et à l'hématéine. (Cette dernière a coloré les tubes et les glomérules.) Encombrement très important de la zone intermédiaire par des cylindres à hémoglobine (en noir), qui obstruent de nombreux tubes à ce niveau; nombreux cylindres dans la pyramide. Gr 7.



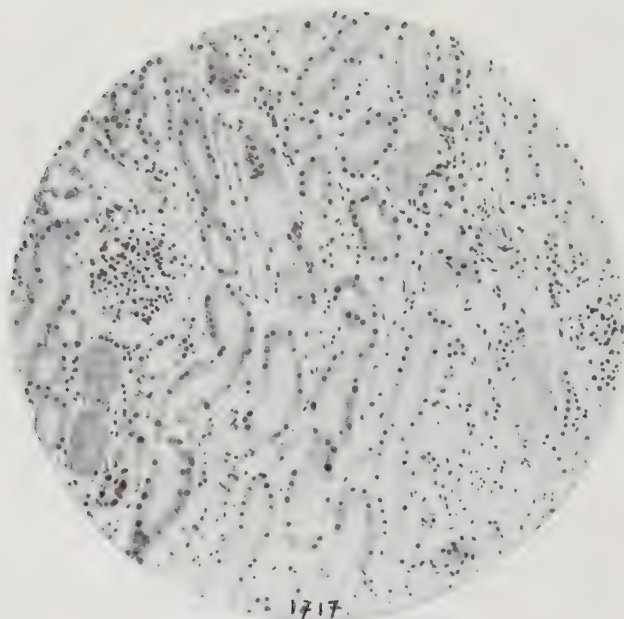
MICROPHOTOGRAPHIE VI. — Rein du chien 77 (Observ. XII). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 14 p. 100. Sacrifié au bout de dix jours. Coupe suivant l'axe d'une pyramide. Coloration au cyanol. Zone intermédiaire très fortement encombrée de cylindres à hémoglobine (en noir), obstruant les tubes urinifères à ce niveau. Nombreux cylindres dans la pyramide de Malpighi jusqu'à la papille Gr. 7.



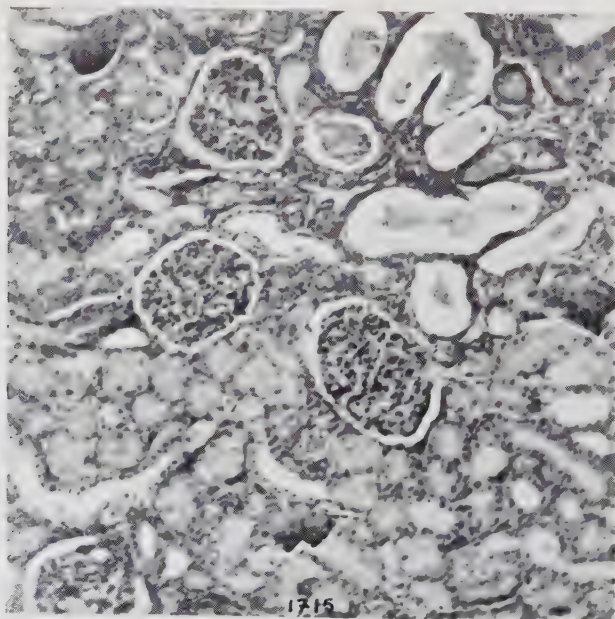
MICROPHOTOGRAPHIE VII. — Rein du chien 31 (Observ. XIV). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 3,5 p. 100. Sacrifié au bout d'un jour. Coupe selon l'axe d'une pyramide. Coloration au cyanol. Quelques cylindres à hémoglobine (en noir) dans la substance corticale, plus abondants dans la zone intermédiaire, rares dans la pyramide. Gr. 7.



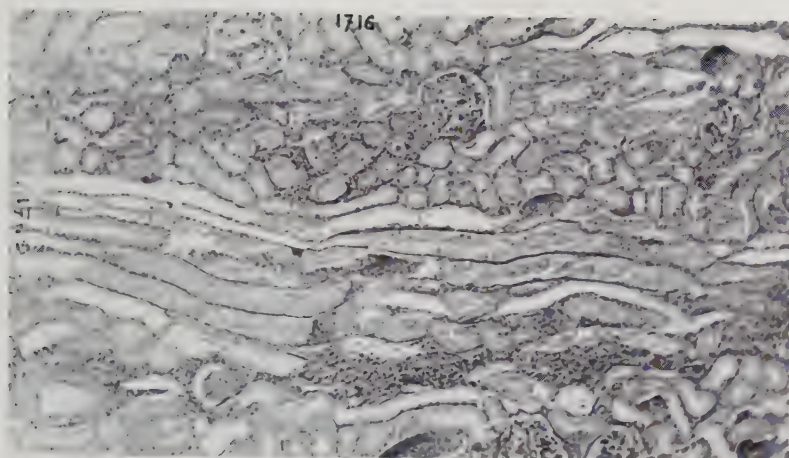
MICROPHOTOGRAPHIE VIII. — Rein du chien 59 (Obs. XXIV). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 7 p. 100. Sacrifié au bout d'un jour. Coupe suivant l'axe d'une pyramide. Coloration au cyanol et à l'hématéine. (Cette dernière a marqué les amas conjonctifs des vaisseaux droits de la zone intermédiaire.) Rares cylindres à hémoglobine dans la zone intermédiaire et vers la papille. Gr. 7.



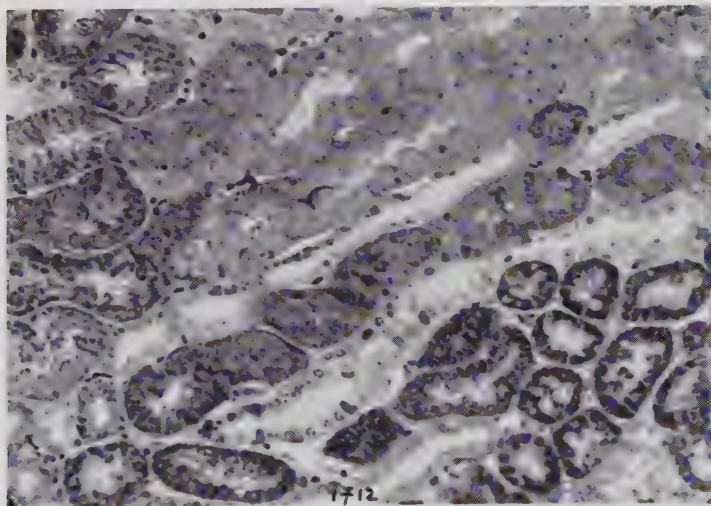
MICROPHOTOGRAPHIE IX. — Rein du chien 62 (Observ. VIII). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 14 p. 100. Sacrifié au bout de quatre jours. Lésions de néphrite épithéliale aiguë, œdème intertubulaire; cellules basses; lumières des tubes larges et encombrées. Au-dessous du glomérule : tube a-cellulaire rempli par un cylindre homogène. Gr. 133.



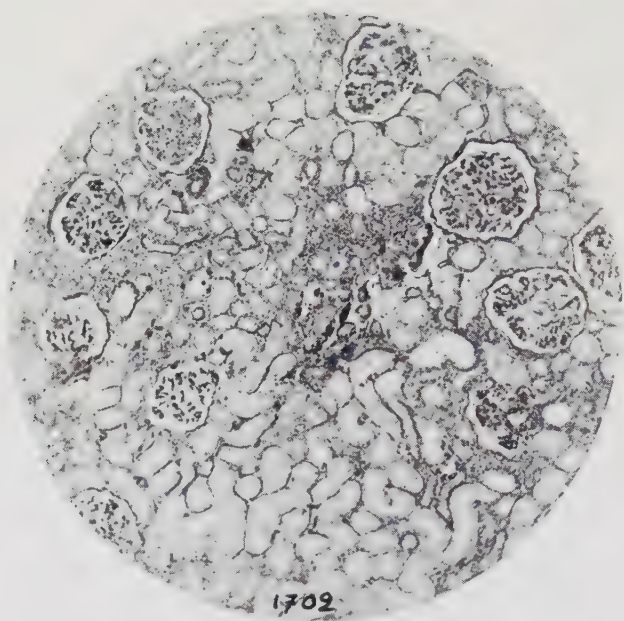
MICROPHOTOGRAPHIE X. — Rein du chien 77 (Observ. XII). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 14 p. 100. Sacrifié au bout de huit jours. Grosses lésions de néphrite épithéliale; cylindres dans des tubes à bâtonnets à lumière élargie et à épithélium desquamé. Hématéine éosine. Gr. 133.



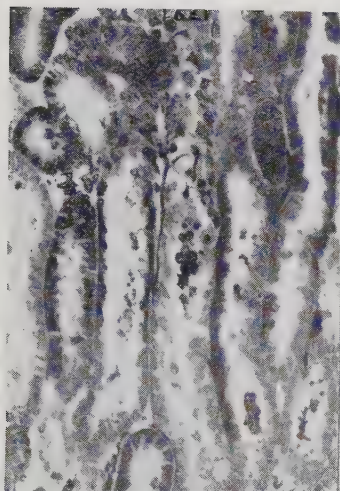
MICROPHOTOGRAPHIE XI. — Rein du chien 71 (Observ. IX). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 14 p. 100. Sacrifié au bout de sept jours. Néphrite relativement peu marquée. Quelques tubes encombrés, collabés ou desquamés; d'autres normaux; d'autres à large lumière. Une bande d'infiltration cellulaire interbullaire au-dessous des tubes collecteurs de la pyramide de Ferrein. Un petit foyer analogue au-dessus de la même pyramide. Gr. 85.



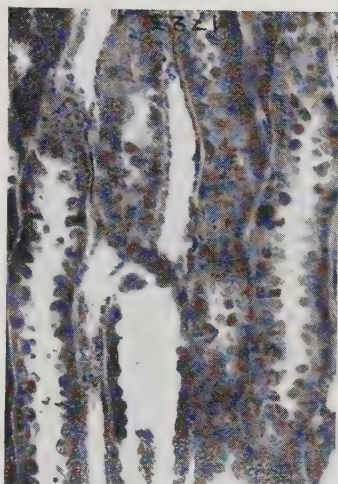
MICROPHOTOGRAPHIE XII. — Rein du chien 73 (Observ. XX). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 3,5 p. 100. Sacrifié au bout de six jours. Tubes contournés normaux en bas et à droite. Immédiatement au-dessus, tubes allongés (anses ascendantes de Henle) à cellules troubles gonflées et à chondriome fragmenté. En haut et à gauche, tubes contournés peu altérés, Hématoxyline ferrique. Gr. 133.



MICROPHOTOGRAPHIE XIII. — Rein du chien 13 (Observ. XVI).
 Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à
 3,5 p. 100. Sacrifié au trentième jour. Lésions persistantes
 de néphrite interstitielle de la zone corticale. Espaces inter-
 tubulaires encombrés de cellules et de fibres. Quelques glo-
 mérules un peu sclérosés. Gr. 85.



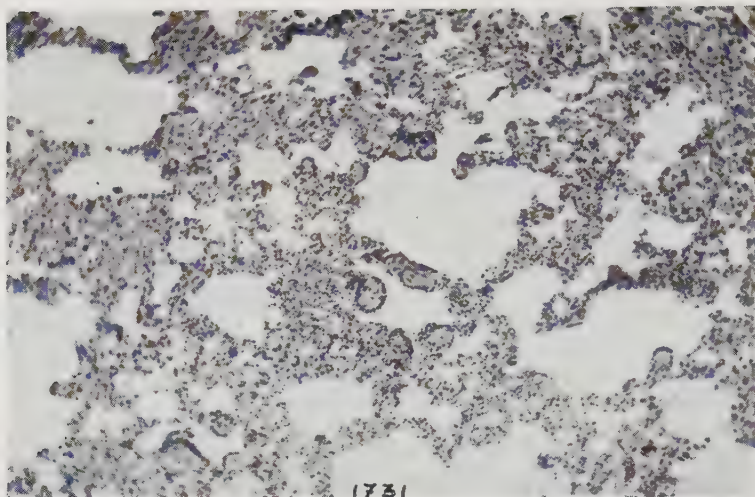
MICROPHOTO XIV



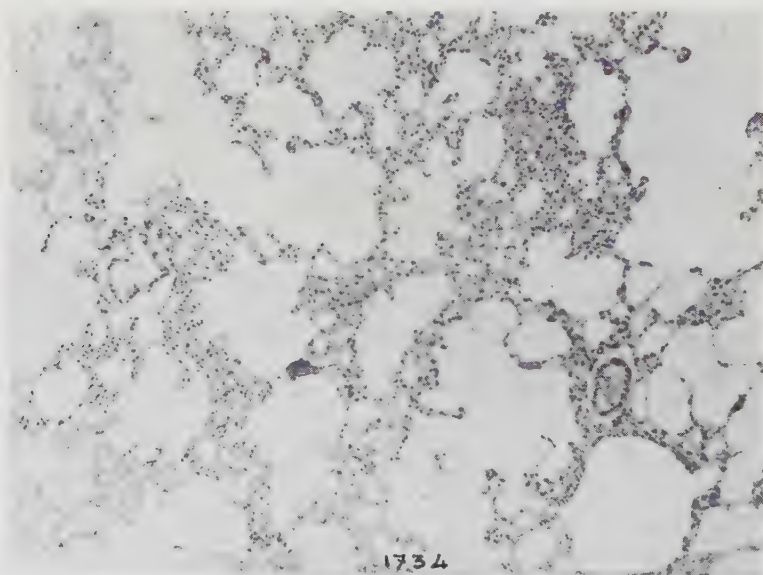
MICROPHOTO XV

MICROPHOTOGRAPHIE XIV. — Rein du chien 56 (Obs. XXIII). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 7 p. 100. Sacrifié au bout d'un mois. Boule sarcodique dans un tube. Coloration par l'héματοxyline ferrique. Gr. 205.

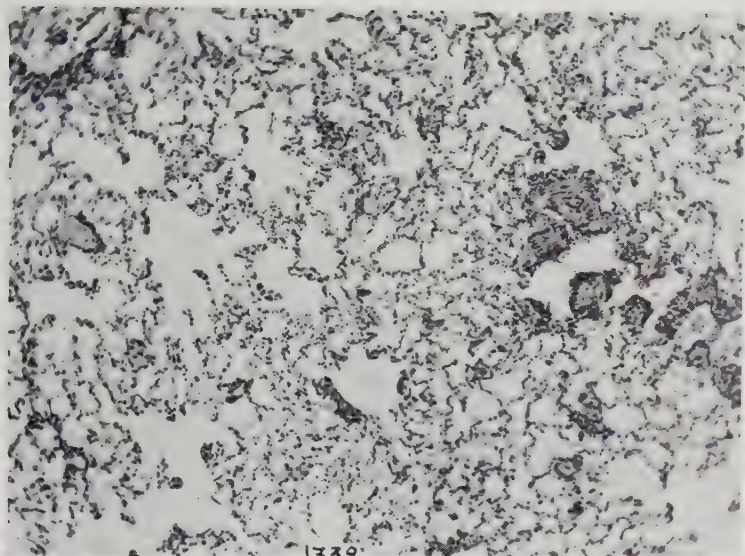
MICROPHOTOGRAPHIE XV. — Rein du chien 59 (Obs. XXIV). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 7 p. 100. Sacrifié au bout d'un jour. Tubes altérés, desquamation cellulaire partielle des branches ascendantes de Henlé; coloration par l'héματοxyline ferrique. Gr. 205.



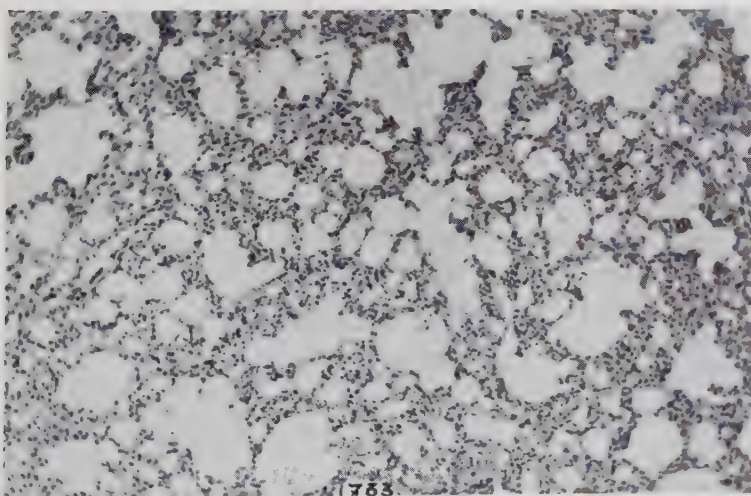
MICROPHOTOGRAPHIE XVI. — Poumon du chien 75 (Observation XXXII). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 6,5 p. 100. Sacrifié au bout de sept jours. Réaction alvéolaires. Hématéine éosine. Gr. 85.



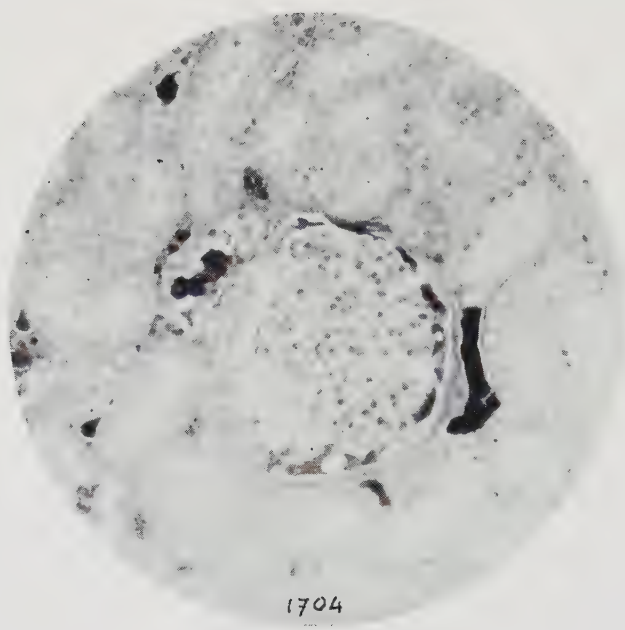
MICROPHOTOGRAPHIE XVII. — Poumon du chien 57 (Observation XXV). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 7 p. 100. Sacrifié au bout de quinze jours. Réaction sensible dans certains îlots du parenchyme pulmonaire. Nombreuses cloisons alvéolaires épaissies. Hématéine éosine. Gr. 85.



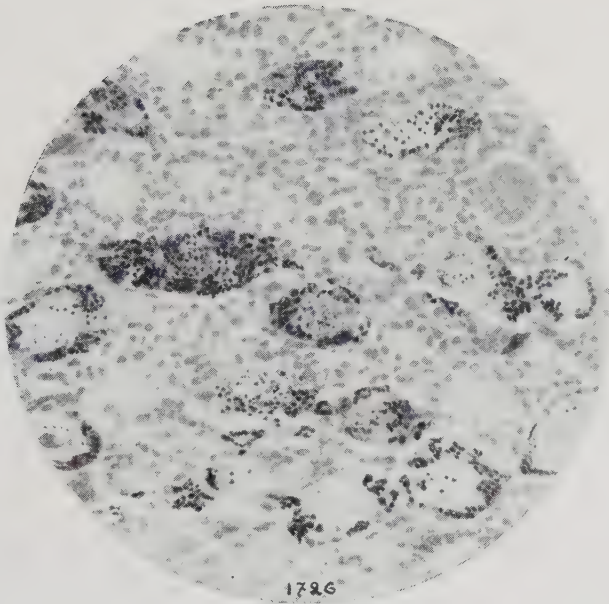
MICROPHOTOGRAPHIE XVIII. — Poumon du chien 56 (Observation XXIII). Traité par injection intraveineuse d'hémoglobine à 7 p. 100. Sacrifié au bout de trente jours. Parenchyme pulmonaire sensiblement normal, mais plissé au moment de la fixation, ce qui fait paraître les alvéoles plus petites que dans les autres figures. Hématéine éosine. Gr. 85.



MICROPHOTOGRAPHIE XIX. — Poumon du chien 64 (Observation XXVIII). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 7 p. 100. Sacrifié au bout de soixante-quinze jours. Réaction encore très notable du parenchyme pulmonaire. Épaississement de nombreuses parois alvéolaires. Hématéine éosine. Gr. 85.



MICROPHOTOGRAPHIE XX. — Rein du chien 31 (Observ. XIV).
 Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à
 3,5 p. 100. Sacrifié au bout de vingt-quatre heures. Colo-
 ration au cyanol et hématéine légère. Un glomérule avec
 coagulum, imprégné d'hémoglobine (en noir) dans sa cavité.
 A côté, un vaisseau avec amas coloré également par le
 cyanol; et un tube (branche ascendante de Henlé) avec un
 cylindre d'hémoglobine coloré par le cyanol. Gr. 205.



MICROPHOTOGRAPHIE XXI. — Rein du chien 77 (Observ. XII).
Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à
14 p. 100. Sacrifié au bout de huit jours. Tubes et lumières
larges, le plus souvent encombrés par des cylindres homo-
gènes ou pigmentaires. Ce pigment d'origine hémoglobinique
existe, non seulement dans la lumière, mais il a été accu-
mulé dans le cytoplasma très réduit des cellules épithé-
liales du tube (athrocytose). Gr. 245.

MICROPHOTOGRAPHIE XXII. — Rein du chien 31 (Observ. XIV). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 3,5 p. 100. Sacrifié au bout de vingt-quatre heures. Nombreux cylindres homogènes dans le segment à bâtonnets riches en graisses. Gr. 85.

MICROPHOTOGRAPHIE XXIII. — Rein du chien 13 (Obs. XVI). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 3,5 p. 100. Sacrifié au bout de trente jours. Cylindres homogènes, colorés par le cyanol, dans un tube droit de la pyramide de Malpighi. Gr. 205.

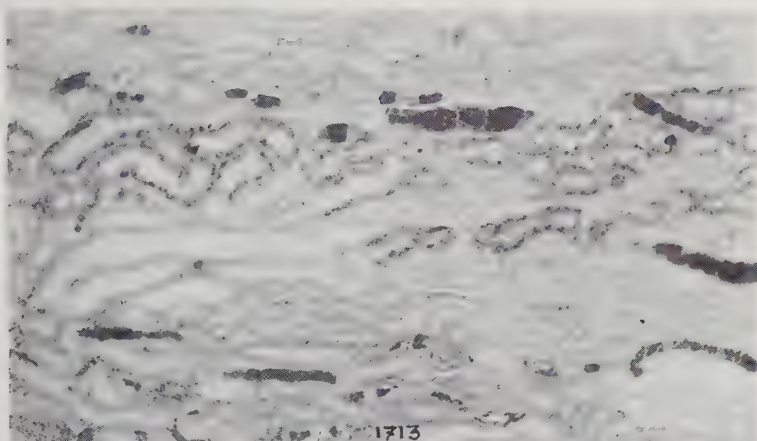
MICROPHOTOGRAPHIE XXIV. — Même chien. Cylindres homogènes colorés par le cyanol dans un segment à bâtonnets. Encoches de résorption sur le pourtour du cylindre. Gr. 205.

MICROPHOTOGRAPHIE XXV. — Même chien. Cylindres en aiguilles agglomérées colorés par le cyanol dans un segment à bâtonnets. Gr. 205.

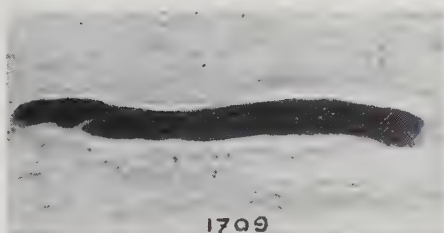
MICROPHOTOGRAPHIE XXVI. — Même chien. Cylindres d'hémoglobine en tablettes colorés par le cyanol dans des tubes de la pyramide de Malpighi.

MICROPHOTOGRAPHIE XXVII. — Rein du chien 77. (Observation XII). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 14 p. 100. Sacrifié au bout de dix jours. Cylindres d'hémoglobine en plaquettes. Gr. 245.

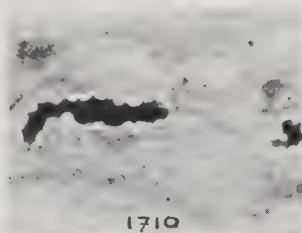
MICROPHOTOGRAPHIE XXVIII. — Rein du chien 13 (Observation XVI). — Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 3,5 p. 100. Sacrifié au bout de trente jours. Cylindres granuleux colorés par le cyanol dans un tube contourné. Gr. 205.



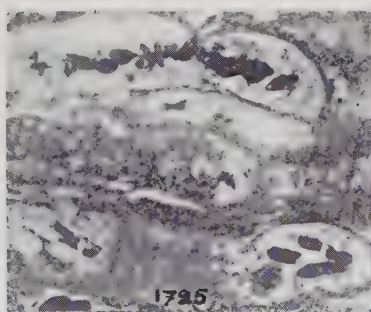
1713
MICROPHOTO XXII



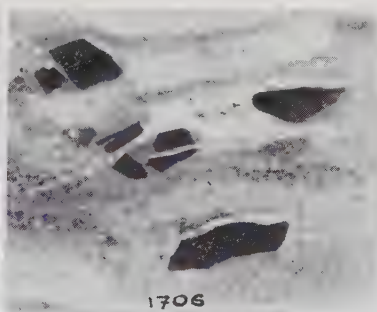
1709
MICROPHOTO XXIII



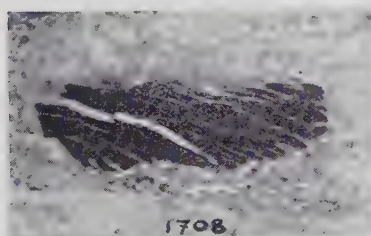
1710
MICROPHOTO XXIV



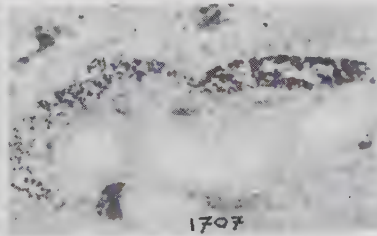
1705
MICROPHOTO XXV



1706
MICROPHOTO XXVI

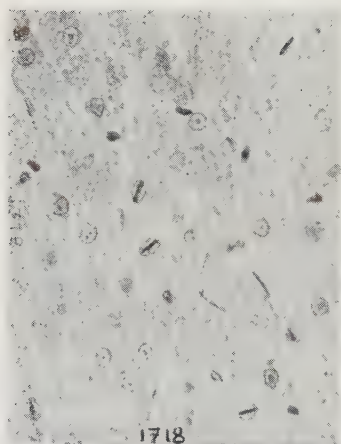


1708
MICROPHOTO XXVII

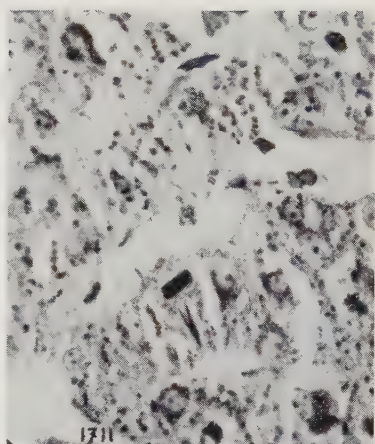


1707
MICROPHOTO XXVIII

TYPES DIVERS DE CYLINDRES



MICROPHOTO XXIX



MICROPHOTO XXX

MICROPHOTOGRAPHIE XXIX. — Foie du chien 13 (Observation XVI). Traité par une injection intraveineuse d'hémoglobine à 3,5 p. 100. Sacrifié au bout d'un mois. Coloration au cyanol. Cristaux d'hémoglobine colorés en bleu par le cyanol dans l'intérieur des noyaux des cellules hépathiques. Cristalloïde en fer de lance dans le cytoplasme. (Chambre Miflex 6,5 $\times$ 9. Obj. correct. 4 mm. Ocul. photo. $\times$ 18. Gr. 401.)

MICROPHOTOGRAPHIE XXX. — Foie du même chien. Coloration par l'hématoxyline ferrique. Cristaux en tablettes et en aiguilles dans une cellule hépatique en bordure de l'espace vasculaire (Chambre Miflex. Obj. imm. $\times$ 100. Ocul. photo. 9. Gr. 570.)

